

UC-NRLF



B 3 789 179

Digitized by Google



Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

2 CENTRALBLATT

für

**Bakteriologie, Parasitenkunde und
Infektionskrankheiten**

Erste Abteilung. 77. Band

Originale

LE CENTRALBLATT
für

**Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten**

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel,
Geh. Obermed.-Rat in Jena

Prof. Dr. R. Pfeiffer
Geh. Med.-Rat in Breslau

und

Prof. Dr. M. Braun
Geh. Reg.-Rat in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm und
Geh. Reg.-Rat in Berlin

Dr. A. Weber
Geh. Reg.-Rat in Berlin-Lichterfelde

Erste Abteilung. 77. Band

**Medizinisch-hygienische Bakteriologie
und tierische Parasitenkunde**

Originale

Mit 14 Tafeln und 51 Abbildungen im Text



Jena

Verlag von Gustav Fischer
1916

THE VIRGIL
AND ROMAN

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 77. Heft 1.

Ausgegeben am 8. September 1915.

Nachdruck verboten.

Ueber anaerobe Streptokokken.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag
(Vorstand: Prof. O. Bail).]

Von **Gottlieb Salus.**

Seit Jahren stehen die anaeroben Streptokokken zur Diskussion; theoretische Fragen knüpfen sich daran, noch mehr aber praktische, die in erster Reihe die Geburtshilfe und Gynäkologie angehen, und es ist kein Zufall, daß die wichtigsten Arbeiten auf diesem Gebiete von Frauenkliniken ausgegangen sind.

Anaerobe Streptokokken im Scheidensekret wurden 1897 von Krönig beschrieben; später studierten Menge und Krönig (1) diesen Keim, den sie aus den Scheidensekreten nicht berührter Hochschwangerer züchten konnten, genau und stellten gegenüber Koblanck (2) fest, daß es sich um eine eigene, konstante Art handle, die — trotz weitgehender morphologischer Gemeinschaft — dennoch vom *Strept. pyogenes* völlig verschieden ist. Der anaerobe *Streptococcus* wurde von ihnen auch aus pathologischen Produkten gezüchtet, in denen er teils in Symbiose, teils allein gefunden wurde. In ihrer vorzüglichen, mit den damaligen komplizierten Anaerobiosemethoden durchgeführten Arbeit beweisen sie das Vorkommen obligat anaerober Streptokokken, die bei Luftzutritt absterben und sich auch nicht allmählich an den Sauerstoff gewöhnen lassen. Nach ihrer Meinung kommen außer den saprophytischen auch mit invasiven Eigenschaften versehene, obligat anaerobe Streptokokken vor (z. B. bei jauchiger Peritonitis). In einer sehr eingehenden, experimentellen Studie kommt H. Natvig (3) zwar ebenfalls zur Anerkennung der obligat anaeroben Streptokokken, die alle zusammen eine neue Art bilden, glaubt aber, bis auf weiteres die Frage offen lassen zu müssen, ob diese Art von Streptokokken das lebende Gewebe primär infiziere, oder sich erst sekundär in pathologischen Produkten (Blutansammlungen), oder von anderen Bakterien erzeugtem Eiter ansiedle. Bezüglich dieser Frage stammen die wichtigsten späteren Beobachtungen von H. Schottmüller (4), der den Keim auch wiederholt allein im Blut vorfand und seine Bedeutung für die fieberhaften Puerperalprozesse mindestens jener der aeroben Streptokokken gleichstellt. Seine Befunde wurden von Hamm (5) bestätigt. Wenn uns auch diese Frage hier nicht weiter beschäftigen wird, so sei doch darauf hingewiesen, daß ihre Entscheidung für die Praxis von größter Wichtigkeit wäre; denn ihre Erledigung in positivem Sinne bedeutet nichts weniger als das Zugeständnis, daß Infektionen durch Eigenkeime, sei es im Gefolge des Touchierens, sei es auch selbst spontan, auch bei strenger Asepsis möglich sind.

Allgemeine Uebereinstimmung ist indessen in keiner dieser Fragen erzielt worden. So sagt v. Lingelsheim (6), es könne heute nicht mehr bezweifelt werden, daß gelegentlich Streptokokken vorkommen, die zum mindesten bei der ersten Züchtung gegen den Luftsauerstoff sehr empfindlich sind; doch handle es sich — in Uebereinstimmung mit der Auffassung von Gräff und Wittneben (7) — wahrscheinlich nicht um wirkliche Anaerobier, sondern um den gewöhnlichen *Strept. longus*,

Erste Abt. Orig. Bd. 77.

Heft 1.

1

der sich erst anaëroben Existenzbedingungen angepaßt habe. In bezug auf die Virulenzfrage gibt v. Lingelsheim zwar unbedingt das Vorkommen der Keime im Blut zu, hält aber diesen Nachweis noch nicht für beweisend für die Virulenz des Keimes und für den progredient septischen Charakter des Prozesses, denn „es ist . . . gar nicht ausgeschlossen, daß die an sich nicht infektiösen Bakterien, unterstützt durch ihre große Zahl und die im toten Substrate gebildeten Gifte, gelegentlich auch das lebende Gewebe invadieren und Schübe bis in das Blut versenden“. [Das wäre eine vermittelnde Auffassung zwischen „Sepsis“ und „putrider Infektion“.]

Sonach sind zweifellos weitere Untersuchungen über diesen Keim, dessen Häufigkeit bei pathologischen Prozessen sehr verschieden eingeschätzt wird, erwünscht. Uns interessierte besonders die Frage, ob diese Streptokokken obligat anaërob sind, oder ob sie, vom Strept. pyogenes abstammend, wieder an aërobe Verhältnisse gewöhnt werden können. Die Versuche wurden zugleich benützt, um auch an diesem Keim das Wachstum obligater Anaërobier in Gewebsextrakten (Verfahren von Tarozzi-Wrzesek) zu prüfen.

Die beiden Stämme, die uns zur Verfügung standen, zeigten zwar weitgehende Uebereinstimmung, unterschieden sich jedoch wesentlich im Grade der Anaërobiose. Der Stamm Strept. putridus Ho. steht den streng aërophoben Bakterien nicht nach, der Strept. anaërob. Asch. dagegen ist mikroaërophil, wächst nahe an die Oberfläche des hohen Agarstiches heran, ohne aber je aërob zur Entwicklung zu kommen. Er mag eine Art Uebergang darstellen. Beide Stämme verdanken wir der Frauenklinik des Herrn Prof. Kleinhaus; den ersten fanden wir in Reinkultur im Eiter eines Beckenabszesses vor, die Aërobkulturen blieben steril; der letztere wurde von uns aus cystitischem Harn gezüchtet, in dem er in Symbiose mit einem aëroben Stäbchen vorlag, das grünlichen Farbstoff bildet. Seine Reinzüchtung gelang mit Hilfe des Lentzschen Anaërobioseverfahrens, das wir auch weiter, z. B. zur Prüfung des hämolytischen Vermögens, in einfacher und bequemer Weise verwenden konnten.

Wir hielten uns berechtigt, im Falle Ho. die Eiterung auf den einzig vorhandenen Keim (Strept. putridus) zurückzuführen, wenn auch nicht die spätere Sepsis, der die Patientin nach wenigen Tagen erlag. Immerhin bleibt auch hier noch der Einwand, daß der ursprüngliche Eitererreger zugrunde gegangen sei und der saprophytische Anaërobe nachher von dem günstigen Boden Besitz genommen habe. Solche Einwände sind um so schwerer zu widerlegen, als gerade beim anaëroben Streptococcus der Tierversuch meist im Stiche läßt.

Im cystitischen Harn dürften Anaërobier recht selten sein; über die ätiologische Rolle des Strept. anaërob. Asch. läßt sich um so weniger Sicheres aussagen, als er in Symbiose vorliegt und einem im Genitaltrakt saprophytisch vegetierenden Keim entspricht.

Beschreibung des Streptoc. putridus Ho.

Sofortige Reinkultur aus dem Abszeßeiter in Agar(schüttel)kultur. In der Lentzschen Agarplatte schon nach 24 Stunden sichtbare, graue, wolkige Kolonien. In gleicher Weise angelegte Blutagarplatten zeigen zur selben Zeit kleine Kolonien im Zentrum eines sonst durchsichtigen Kreises. Der Hämolysekreis nimmt später noch zu. In hohem Agarstich 2—3 cm unter der Oberfläche beginnendes Wachstum in Form

eines sich nach unten verjüngenden Bandes mit ausgebuchteten Rändern. Einzelkolonien braun, wetzsteinförmig oder linsenförmig. Die gleiche Form haben die Kolonien in hoher Traubenzuckeragarschicht, die Zonenwachstum zeigen, derart, daß in 2 cm Tiefe eine Schicht dichtgestellter Kolonien von ca. 3 cm Mächtigkeit beginnt, in deren tieferen Lagen die Kolonien dünn gesät sind und die untersten ca. 2 cm des Nährbodens leer bleiben. Der Keim wächst üppiger in Traubenzucker- und in Blutagar. Selten wird wenig Gas gebildet, die Agarkulturen zeigen keinen auffallenden Geruch. In ausgekochter Bouillon, nach Impfung mit sterilem Vaselineöl überschichtet, mäßiges Wachstum bei 37° C unter gleichmäßiger Trübung des Nährbodens; kein Wachstum bei Zimmertemperatur; die untere Grenze bei ca. 26° C (spricht wohl für Anpassung an den tierischen Organismus). In Gelatine bei 37° C Wachstum am Boden der Flüssigkeit, grau, wolkig, geballt. An der Luft rasches Absterben. Sticht man in hohem Agar ab, so daß der oberste Teil des Stichkanals Luftbläschen enthält, so wird auch in der 40. Generation kein Fortschreiten des Wachstums gegen die Oberfläche zu wahrgenommen. Mikroskopisch: Diplo- und Streptokokken, grampositiv, meist von mittlerer Länge, aber auch 40—50 Gliedern. In älteren Kulturen sieht man oft zwischen den im allgemeinen zarten Gliedern im gefärbten Präparat einzelne plumpere, in ganz alten Kulturen schlecht färbbare Degenerationsformen bis zu Ketten, die an leere Schläuche erinnern.

Tierversuche: Meerschweinchen, subkutan injiziert mit Bouillonkultur, reagieren ebensowenig wie Mäuse, letztere reagieren auch auf die intraperitoneale Injektion nicht. Negativ verläuft auch der Versuch, in dem ein mit Kultur getränkter Span einer Maus subkutan eingebracht wird.

Sehr beachtenswert ist der Vergleich mit den bakteriologischen Befunden an der Leiche, die wir Herrn Prof. Ghon verdanken. Es sei nur erwähnt, daß aus der Milz eine Reinkultur des aeroben *Streptococcus pyogenes* gezüchtet wurde, aus dem Beckenabzeß ein Bakterien-gemenge, darunter Streptokokken, *C. vulgare* und eine andere gram-negative Bakterienart. Von anaeroben Keimen geschieht im Sektionsprotokoll keine Erwähnung. Wir können daher die letale Sepsis nicht auf die Anaerobier des Eiters beziehen.

Beschreibung des anaeroben *Streptococcus* Asch.

Aus der Symbiose leicht mittels des Lentz'schen Plastilinverfahrens reingezüchtet. Morphologisches Verhalten mit dem des *Strept. putridus* Ho. bis auf die größere Neigung zur Bildung semmelförmiger Diplokokken in eiweißreichen Substraten völlig übereinstimmend. Auch die Wachstumsbedingungen und das Aussehen der Kulturen sind analog, bis auf den Umstand, daß er bis $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{4}$ cm an die Oberfläche des hohen Agarstiches heranwächst, also oligoäerophil ist, ohne je Oberflächenwachstum zu zeigen, auch nicht bei lange fortgesetzter Uebertragung im hohen Agarstich in der früher erwähnten Weise. Tierversuche verliefen negativ.

Nun handelte es sich darum, festzustellen, ob diese Streptokokken unter besonderen, dem aeroben Wachstum günstigen Verhältnissen gedeihen und mit Hilfe derselben zu aerobem Wachstum angezüchtet werden können. Nur dann wäre man berechtigt, den Aerobier als eigene Art fallen zu lassen.

Hierzu erschien das Verfahren von Tarozzi (8) ganz besonders

1*

geeignet. Daß Anaërobier bei Anwesenheit von Organstückchen aërob gezüchtet werden können, wurde schon früher von Smith, Hibler, Kitt beobachtet. Tarozzi erhob zuerst das Verfahren zur Methode, indem er feststellte, daß sich hierzu steril entnommene tierische Parenchymgewebe — Leber, Milz, Niere — besonders eignen. Er verwendete flüssige und feste Nährsubstrate gebräuchlicher Art (Bouillon, schräges Agar), in bzw. auf welche ungefähr 1 cm große Gewebstückchen gebracht wurden; in letzterem Falle wachsen die Keime im Kondenswasser. Die Nährböden wurden 1—2 Tage zur Feststellung ihrer Sterilität bebrütet. Nährsubstrate, aus denen das Gewebstück nach einigen Stunden entfernt wurde, behielten die Fähigkeit, die Anaëroben bei Luftzutritt wachsen zu lassen. Durch 5 Minuten langes Erhitzen der Organbouillon zum Sieden sollte im allgemeinen diese merkwürdige Eigenschaft verloren gehen. Tarozzi nimmt an, daß sich in zelligen Geweben eine Substanz befinde, die in die Umgebung diffundiert und das Wachstum des Anaërobiers bei Anwesenheit von Luft befördert (diese Substanz vermutet Calderini [9] nach Versuchen in den Lipoiden). Wrzosek (10) bestätigte die Angaben von Tarozzi, fand ferner — was schon Ori und Tarozzi sahen — daß auch verschiedenen pflanzlichen Geweben dieselbe Fähigkeit zukommt; besonders hervorgehoben sei jedoch, daß er nachwies, daß es nicht nur angehe, sondern sogar vorteilhaft sei, die Bouillon nach Zusatz des Gewebes nochmals 15 Minuten lang bei 120° im Dampf zu sterilisieren, ehe man — gleich nach dem Abkühlen — beimpft. (Das hat den Vorteil, daß man nicht so viele Kulturröhrchen verliert und nicht 2 Tage lang warten muß, da auf diese Weise nahezu immer sterile Substrate gewonnen werden.) Auch nicht ganz frische, selbst zerfallende tierische Gewebe enthalten diese Substanz, die gegen Hitze resistent ist, aber unter dem Einflusse der Luft — nicht des Lichts — in einigen Tagen verloren geht. Nach Harras (11) ist Leitungswasser mit Organstücken ebenso gut geeignet, so daß diese zugleich als Nährsubstrat dienen mögen, das den Anaërobiern bessere Ernährungsbedingungen biete, wodurch der relativ ungünstige Umstand des freien Sauerstoffzutritts ausgeglichen werde.

Versuche.

1) In ein 100 ccm fassendes Kölbchen werden 50 ccm Bouillon eingefüllt. Steril entnommene größere Stücke Meerschweinchenleber werden eingebracht. Nach mehrstündigem Stehen wird steril in Eprouvetten abfiltriert, Filtrat auf Sterilität geprüft. Dasselbe ist sehr eiweißreich (Organeiweiß hinzugekommen).

In je 3 Röhrchen wird *Strept. putridus* Ho. und *Strept. anaërob.* Asch. eingeimpft. Ueberall reichliches Wachstum der Streptokokken in langen Ketten. Nach 48 Stunden in allen Röhrchen körniger Bodensatz, darüber die Bouillon klar oder nur leicht getrübt. Nach 60 Stunden Bouillonkulturen klar, Bodensatz stärker. Das Wachstum ist üppiger als in anaërober Bouillon.

2) Steril entnommene Organstückchen von ca. 1 cm Länge in Bouillon gebracht. Die steril gebliebenen Röhrchen werden beimpft.

Strept. putridus Ho. wächst gut in Leberbouillon, in bluthaltiger Herzbouillon, wenig in Nierenbouillon.

Strept. anaërob. Asch. wächst gut und in langen Ketten in Leberbouillon, gut in Herzbouillon, ebenso in Nierenbouillon, schwach in Lungenbouillon.

Die Leberbouillon mit *Strept. putridus* ist mitunter später übelriechend, grün verfärbt, zeigt Gasblasen; da Verunreinigung ausgeschlossen werden konnte, ist anzunehmen, daß unter Umständen durch ihn Fäulnisvorgänge verursacht werden.

3) Agarstückchen, die Kolonien des *Strept. putridus* enthalten, in Nährbouillon gebracht (12. April). Erst am 15. April leichte Trübung von Diplokokkenwachstum. 17. April: nicht weiter gewachsen.

4) Agarstückchen in Nährbouillon gebracht. Nach 3 Tagen ist die Luft aus den Agarstückchen entwichen, diese selbst liegen am Boden des Röhrchens.

2 Röhrchen, mit *Strept. putridus* Ho. beimpft, bleiben dauernd steril.

2 Röhrchen, mit *Strept. anaërob.* Asch. beimpft, wächst trüb, das Agar schmilzt allmählich; sehr lange Streptokokkenketten.

5) Der *Streptococcus* Asch. wächst im allgemeinen üppiger und leichter. Impft man von den Organbouillonröhrchen, in denen die beiden Mikroorganismen gewachsen sind, in hohen Agar ab, so daß man den Platindraht eintaucht und je 2 Agarröhrchen hintereinander beimpft, so findet man das Wachstum in dem Röhrchen I beim *Strept. putridus* Ho. um einige Millimeter an die Oberfläche gegenüber dem gewöhnlichen hohen Agarstich mitunter genähert, während beim *Streptococcus* Asch. das Wachstum bis knapp an die Agaroberfläche heranreicht. Die Röhrchen II dagegen zeigen immer das typische Verhalten beider Keime. Es ist also die anaërobe Zone im Stich durch die Uebertragung von reduzierender Substanz aus den Organbouillonröhrchen vergrößert worden (Röhrchen I).

6) Steril entnommene Meerschweinchenleber in schmalen, ca. 1 bis 1½ cm langen Stücken kommt in Nährbouillon. Diese wird 15 Minuten im Dampftopf sterilisiert, die überzähligen Röhrchen werden im Eisschrank aufbewahrt.

Beimpfung mit *Strept. putridus* Ho. Leberbouillon nach 24 Stunden trüb, Gasblasen steigen auf, Leberstück am Boden, dunkelgrün verfärbt, Kultur übelriechend. Mikroskopisch: üppige Reinkultur von langen Streptokokken.

Hiervon wird ein hoher Agarstich, eine Leberbouillon- und eine gewöhnliche Bouillonkultur angelegt. Im hohen Agarstich das typische aërophobe Verhalten, in der Organbouillon das Wachstum weniger üppig als das erste Mal, Aërobkultur steril. Von der Organbouillonkultur werden wieder jene 3 Abimpfungen vorgenommen und so durch eine lange Serie täglich fort. Immer bleibt der hohe Agarstich streng aërophob, immer ist die Anaërobkultur steril.

Das gleiche Verhalten zeigt der *Strept. anaërob.* Asch., bloß daß bei Uebertragung von viel Organbouillon mit dem Platindraht das Wachstum bis nahe an die Oberfläche herankommt in Form einer schleierartigen Verlängerung des Bandes. Wird der Draht nicht wieder eingetaucht, sondern ein zweites Agarröhrchen durch Stich beimpft, dann zeigt dieses das typische Verhalten (¼—½ cm von der Oberfläche beginnendes Wachstum).

7) In eine hohe Petri-Schale werden einige flache Leberstückchen verteilt, das Ganze im Dampftopf einmal durch 15 Minuten sterilisiert und nach dem Erkalten mit verflüssigtem, mit *Strept. anaërob.* Ho. beimpftem Agar übergossen.

Das Wachstum des Keimes beschränkt sich 1) auf das Organ selbst,

an dessen Unterfläche Gruppen von Einzelkolonien mit der Lupe wahrnehmbar sind, die die braune Färbung und die Linsenform der Kolonien in der Schüttelkultur haben; außerdem wachsen die Streptokokken in das Gewebe zwischen den Leberzellen hinein; 2) auf eine schmale Zone um die Leberstückchen herum, die $\frac{1}{2}$ —2 mm breit ist und diffuses Wachstum zeigt. Die ganze übrige Platte ist und bleibt dauernd steril.

Zusammenfassung.

1) Es gibt obligat anarober Streptokokken im Körper, die trotz morphologischer Verwandtschaft mit dem *Streptococcus pyogenes* eine eigene Art bilden und die auch unter den günstigsten Bedingungen nicht zur Arobiotie angezüchtet werden können. Besonders scharf kommt das bei unserem *Strept. putridus* Ho. zum Ausdruck.

2) Das Tarozzi-Wrzoeksche Verfahren ist zur Kultur anarober Streptokokken gut geeignet. Die einmalige Sterilisierung der Substrate durch 15 Minuten im strömenden Wasserdampf ist — wie Wrzosek angibt — eher zweckmäßig als nachteilig.

3) Dieses Verfahren ist keine Züchtung von Anarobiern unter aroben Verhältnissen. Es beruht vielmehr auf dem Unwirksamwerden des Sauerstoffes, also auf Herstellung anarober Verhältnisse.

Welchem chemischen Gewebsanteil diese sauerstoffzerstrende Wirkung zukommt, soll später untersucht werden.

Literatur.

- 1) Menge u. Krönig, Monatsschr. f. Geburtsh. u. Gynäk. Bd. 9. p. 703.
- 2) Koblanck, Monatsschr. f. Geburtsh. u. Gynäk. Bd. 10; Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäk. Bd. 40. p. 85.
- 3) Natvig, Arch. f. Geburtsh. n. Gynäk. Bd. 76. H. 3.
- 4) Schottmüller, München. med. Wochenschr. 1911. No. 11; Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. 21. 1910. H. 3.
- 5) Hamm, Centralbl. f. Gynäk. 1910. H. 52.
- 6) v. Lingelsheim, in Kolle-Wassermann. 2. Aufl. B. 4. 1912. p. 491.
- 7) Gräf u. Wittneben, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. p. 97.
- 8) Tarozzi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 38. p. 619; zit. nach Wrzosek (Estr. degli Atti R. Acc. Fisiocr.).
- 9) Calderini, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. H. 6.
- 10) Wrzosek, Wiener klin. Wochenschr. 1905; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43, 44.
- 11) Harras, München. med. Wochenschr. 1906. No. 46.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Darmflora beim gesunden Ochsen¹⁾.

Von Albert Fischer, Kopenhagen.

Mit 1 Textfigur.

Einleitung.

Die Bakterien im Darmkanal spielen für den Organismus eine nicht geringe physiologische Rolle. Die vielen chemischen Prozesse, Zersetzen komplizierter Stoffe zu einfacher zusammengesetzten rhren

1) Von „det kongelige danske Videnskabernes Selskab“, Kopenhagen, mit Extrapreis belohnt.

größtenteils von den Darmbakterien her, und da sich obendrein viele pathologische Verhältnisse auf Störungen der Funktion des Darmes zurückführen lassen, so ist es begreiflich, daß die Darmflora sowohl beim Menschen als auch bei den Tieren zum Gegenstand eingehender Untersuchungen gemacht worden ist.

Schon Pasteur stellte die Frage auf, ob das Vorhandensein der Bakterien für die Existenz des tierischen Organismus notwendig sei. Durch Beiträge zur Lösung der Frage haben sich Nuttall und Thierfelder sowie Schottelius besonders verdient gemacht. Die beiden Erstgenannten kamen zu dem Resultate, daß das Mitwirken von Bakterien im Darmkanal nicht notwendig sei. Schottelius zeigte dagegen, daß das Vorhandensein von Bakterien im Darmkanal bei den Kücken eine prinzipielle Naturnotwendigkeit sei.

Sowohl Nuttall und Thierfelder als auch Schottelius machen darauf aufmerksam, daß die steril gehaltenen Tiere immer an Hunger litten, und daß sie unausgesetzt fraßen, ohne jedoch sonderlich an Gewicht zuzunehmen.

Es gelang Mme. Metschnikoff, nachzuweisen, daß Froschlurche ohne Bakterien nicht existieren könnten.

Frerichs und Eichstedt sind wohl die ersten, die die Bakterienflora im Darmkanal studierten. Sie waren der Ansicht, daß die Bakterien auf die Verdauung entweder hemmend oder fördernd einwirkten. Von den im Magen und Darmkanal gefundenen Formen führen sie besonders Hefezellen und *Sarcina ventriculi* an. Auch Zürn hält daran fest, daß sich im Magen und Darmkanal aller Haustiere beständig Mikrokokken, Hefezellen und stäbchenförmige Organismen fänden. Auch Nencki meinte, daß die Bakterien einen großen Einfluß auf die Verdauung hätten; er fand verschiedene Bakterien in den verschiedenen Abschnitten des Darmkanals. Im obersten Teil des Dünndarmes fand er nur Mikrokokken und im Dickdarm cylindrische Stäbchen. Nothnagel fand verschiedene konstante Formen im Darmkanal, wie z. B. Kokken und Stäbchen. Später gelang es Bienstock, nachdem er sich mit Kochs Plattenverdünnungsmethode bekannt gemacht hatte, 4 verschiedene Bakterien zu isolieren, die er für konstante Bewohner des Darmkanals hielt.

Escherich fand bei Neugeborenen im Darminhalt 2 kohlehydratspaltende Bakterien, *Bacillus lactis aërogenes* und *Bact. coli commune*. Die erstere fand sich fast ausschließlich in den obersten Darmabschnitten, die letztere im Mastdarm.

Eberle zeigte, daß nur ca. 5—10 Proz. der Bakterien, die sich mikroskopisch nachweisen ließen, auf den gewöhnlichen Nährmedien zur Entwicklung kamen. Man bemerkte so z. B. beständig verschiedene Gram + Stäbchen in den Faeces der Neugeborenen. Aber erst Tissier, Moro und Finkelstein waren imstande, nachzuweisen, daß es sich um acidophile Bakterien handelte, indem sie zur Isolierung saure Nährsubstrate benutzten, wodurch *Bact. coli* im Wachstum zurückgehalten wurde. Diese acidophilen Bakterien wurden zu den obligaten Darmbakterien gezählt, nachdem Mereschowsky und seine Schule sie beim Pferde, Ochsen, Hund, bei der Katze u. a. als konstant auftretend gefunden hatte. Huber hebt hervor, wie fast überall in der Literatur auf die Pleomorphie dieser acidophilen Bakterien aufmerksam gemacht wird, indem einige eine große Ähnlichkeit mit den Diphtheriebacillen, andere mit *Actinomyces* haben; so wird z. B. diese Gruppe von Moro *Bacillus acidophilus* genannt, während Tissier sie als *Bacillus bifidus* beschreibt.

Die Bakterienflora ist, wie erwähnt, in den verschiedenen Darmabschnitten verschieden, was wiederum genau mit den verschiedenen Funktionen des Darmes zusammenhängt. Der Magen und Dünndarm, die ab und zu leer sind, sind gewöhnlich sehr arm an Bakterien. Der Dickdarm dagegen, welcher nie leer ist, hat immer reichlich Bakterien. Daß Salzsäure und Darmsaft hemmend und tötend auf die Bakterien einwirken, ist von Kast, Kabhrel, Strauss, Würtz und Hamburger nachgewiesen worden, die das Verhalten verschiedener pathogener Bakterien zur freien und gebundenen Salzsäure untersucht haben. Bakterien vertragen nur schlecht freie Salzsäure, während an Pepton gebundene Salzsäure weit besser vertragen wird. Auch Frank und Falk haben den Einfluß der Verdauungssäfte auf pathogene Bakterien untersucht.

Kohlbrugge fand bei Tieren den Magen und den obersten Teil des Dünndarmes mehrmals steril; besonders, wenn der Magen mit Ingesta gefüllt war, ließen sich zahlreiche Bakterien nachweisen, wogegen er, wie gesagt, steril war, wenn er leer war. Wo Ingesta sind, finden sich auch Bakterien. Coecum und Colon sind nie ohne Bakterien; es finden sich da immer Mengen von Ingesta. Das Coecum ist nach Kohlbrugge der Herd von *Bact. coli*; es ist eine Reinkultur, die mit der ersten Nahrungsaufnahme beginnt und beim Tode endigt, wenn die Verdauungsbakterien in die

Leiche übergehen. Auch Ballner, Brotzu, Horowitz, Rahner und Joest präzisieren, daß die Bakterienanzahl zunimmt, je weiter man sich vom Magen entfernt.

Ueber die Kenntnis der Bakterienflora im Darmkanal unserer gewöhnlichen Haustiere finden sich vereinzelte Notizen und einzelne längere Arbeiten. So z. B. haben Heinick, van Velzen, Uhlenhuth, Hübener, Xylander, Bohtz sich mit den im Schweinedarm vorkommenden Bakterien beschäftigt. Die Bakterienflora bei Hunden ist besonders von Horowitz und Bisanti und bei Hühnern von Rahner und Joest untersucht worden. Dyar, Keith, Belitzer, Moore und Wright haben die Coli-Bakterien bei verschiedenen Haustieren studiert und z. B. auch die Darmflora des Pferdes berührt.

Ueber die Darmflora des Ochsen haben wir Mitteilungen von Gröning, Hüttemann, Neubauer, Popoff, Eckert und Ankersmit.

Gröning untersuchte den Darmkanal auf Streptokokken. Im obersten Viertel des Dünndarmes konnte er weder kulturell noch mikroskopisch Streptokokken nachweisen, wogegen der Dickdarm zahlreiche Streptokokken enthielt. Bienstock war wohl der erste, der eine anaerobe Darmbakterie beschrieb, nämlich *Bacillus putrificus coli*. Hüttemann konnte keinen obligaten Anaeroben finden; Neubauer fand nur selten Anaeroben und behauptet, daß diese im Dickdarm häufiger als im Dünndarm wären, und daß die mit der Nahrung aufgenommenen Anaeroben im Magen oder Duodenum zugrunde gingen. Heinick konnte einige anaerobe Bakterien aus dem Schweinedarm nicht isolieren. Flügge fand fortgesetzt anaerobe Bakterien im Darmkanal der Pflanzenfresser.

Ankersmit fand die größte Bakterienanzahl im Pansen, während der Labmagen sehr wenige enthält, bisweilen gar keine. Im mittleren Stücke des Dünndarmes finden sich infolge der bakteriziden Verdauungsflüssigkeiten beständig weniger Bakterien als im Labmagen. Im Colon steigt die Anzahl der Bakterien. Im Colon und Rectum nimmt die Menge der Bakterien wiederum stark zu, ohne jedoch (zit. Ankersmit) die Bakterienanzahl im Pansen zu erreichen. Verf. unterscheidet zwischen obligaten und fakultativen Darmbakterien. Zu den ersteren zählt er Bakterien, die man stets mit Sicherheit in den betreffenden Darmabschnitten antreffen wird. Zu diesen gehören *Bact. Güntheri*, dessen Hauptstation der Pansen ist, der sich aber auch in den anderen Darmabschnitten finden kann, weiter *Bact. coli* und Abarten, die immer im untersten Teile des Ileums, im Coecum und Colon zu finden sind. Zu den fakultativen Bakterien rechnet man diejenigen, welche zufällig mit der Nahrung aufgenommen und nirgends zur Entwicklung gekommen sind. Zu dieser Gruppe gehören die Kokken, resistente Erdbakterien, peptonisierende, sporenbildende Fäulnisbakterien.

Betreffs der Keimanzahl bei nüchternen Kälbern führt Ankersmit an, daß sie viel höher sei als beim ausgewachsenen Ochsen. Die Bakterienanzahl ist im Colon am größten und besteht außer *Günther-Stäbchen* aus dem ausgeprägten langstäbchenförmigen *Bacillus acidilact*.

Hüttemann geht nicht genauer auf die einzelnen Abschnitte ein, sondern hält sich im großen und ganzen an den Darmkanal. *Bact. coli* und *Bacillus subtilis* rechnet er zu den obligaten Bakterien, während im übrigen die verschiedensten Bakterien zu jeder Zeit im Darmkanal auftreten können.

Im Hinblick auf die Fleischvergiftung hat Eckert bei verschiedenen Haustieren den Darmkanal auf Bakterien untersucht, die zur Paratyphusgruppe gehören; von 16 Kühen hat er jedoch nur eine einzelne Art isolieren können.

Sowohl das Alter des Tieres als auch die aufgenommene Nahrung haben einen ziemlichen Einfluß auf die Bakterienflora. Und selbstverständlich variiert die Flora in bezug auf die verschiedenen Tierarten. De Giæxa hat eine Reihe von Untersuchungen über die Darmflora bei verschiedenen Tieren angestellt. Er fand, daß die pflanzenfressenden immer eine geringere Bakterienanzahl als die fleischfressenden und alles fressenden hatten. Bienstock, Escherich, Lembke, Brotzu, Horowitz, Moro, Sittler und Hammerl haben gezeigt, in wie hohem Grade die Bakterienflora im Darm von der eingenommenen Nahrung abhängt, was bedeutet, daß die Lebenswirksamkeit der Bakterien in genauem Verhältnis zu den äußeren Bedingungen steht, die ihnen gestellt werden. Bienstock, Escherich und Lembke zeigten besonders durch Versuche an Hunden, daß die Fäulnisbakterien auftraten, sobald die Tiere Fleisch bekamen. Wenn sie Milch bekamen, stieg die Anzahl der langen Milchsäurestäbchen; sobald aber mit Fleisch gefüttert wurde, zeigten sich viele *Proteus*-Arten. Brotzu fütterte einige Hunde mit steriler Nahrung und sah, daß die Bakterienanzahl dabei bedeutend sank.

Lembke zeigte auch, daß nicht allein die Nahrung einen Einfluß auf die Flora haben kann, sondern daß auch eine vermehrte Peristaltik, die durch enorme Mengen Futter hervorgerufen ist, eine Aenderung des normalen Aussehens der Flora geben kann, was sich namentlich durch das Auftreten eines mächtigen Artenreichtums zeigte.

Die meisten Autoren sind jedoch darin einig, daß der Bakteriengehalt in der aufgenommenen Nahrung keinen besonderen Einfluß auf die Darmflora habe; so z. B. Escherich, Eberle, Stern, Belonowsky und Hammerl.

Wüthrich und Freudenreich stellten einige Fütterungsversuche an Kühen an. Es zeigte sich, daß die Bakterienanzahl beim Uebergang von der Grasfütterung zur Trockenfütterung stieg, daß hingegen die Keimzahl beim Uebergang von der Trockenfütterung zu sauren Kartoffeln geringer wurde. Bei der Fütterung mit Heu zeigten sich zahlreiche Heubacillen, resistente, sporenbildende Bakterien und eine Vermehrung der *Bact. coli*.

Eine Frage, die eine lebhaftete Diskussion hervorgerufen hat und über die eine Reihe von Arbeiten erschienen ist, ist die Cellulosegärung. Tappeiner hat mit den begründenden Untersuchungen begonnen. Henneberg und Stohmann, Popoff und Zuntz zeigten, daß es sich unter Luftentwicklung um eine wirkliche Gärung handelte, wobei Methan die Hauptrolle spielte. Ferner zeigte Tappeiner, daß diese Cellulosegärung vorzugsweise im Pansen vor sich geht, am wenigsten aber im Dickdarm; der Dünndarm nahm an diesem Prozeß nicht teil. In neuester Zeit sind vorzügliche Untersuchungen von Kellner und Omelianski erschienen, welche zeigten, daß es 2 Arten von Cellulosegärungen gibt, nämlich eine Wasserstoff- und eine Methangärung. Es gelang, die betreffenden Bakterien zu isolieren. Matze glaubt, eine *Pseudosarcina* gefunden zu haben, die die Ursache der Methangärung sei, führt aber an, daß sie die Cellulose in Reinkultur nicht aufzulösen vermöge, sondern nur in Symbiose mit Buttersäurebakterien.

Es ist von Weiser nachgewiesen, daß 34—70 Proz. des Pentosangehaltes im Futter verdaut wurden. Einige meinen dagegen, daß Pentosane ebenso verdaulich wären, wie die übrigen Futterbestandteile; so z. B. Lindsey und Holland. Die Verdauungskoeffizienten der Pentosane und der Cellulose sind proportional (Weiser); Stone konnte in vielen Fällen konstatieren, daß die Pentosanverdauung geringer war als die Celluloseverdauung. Nach Rudzinski sollen Pentosane für gewisse Bakterien ein vorzügliches Nahrungsmittel sein.

Experimenteller Teil.

Die Arbeitsmethode.

Sobald das Tier geschlachtet war, wurden die Eingeweide vorsichtig herausgenommen und auf einen Tisch gelegt. An der Stelle, wo die Proben gemacht werden sollten, wurde mit Paquelin's die Oberfläche in einer Ausdehnung von ca. 20 ccm sorgfältig abgebrannt. Alsdann wurde der Darm durchgebrannt und etwas vom Inhalte durch die Öffnung in sterile konische Kolben ausgedrückt, in denen sich im voraus ca. 50 ccm steriler physiologischer NaCl-Lösung befanden. Kurz darauf, d. h. 1 Stunde später, wurde das Material im Laboratorium verarbeitet.

Aus diesen Kolben mit den Proben wurden mit steriler Pipette ca. 5 ccm genommen, die mit je 25 ccm NaCl-Lösung auf andere Kolben übergeführt wurden. Von dieser passenden Verdünnung wurden Ausbreitungen auf Gelatineplatten und Agarplatten, mitunter auch auf Dextroseagarplatten vorgenommen. Die Ausbreitung ging stets folgendermaßen vor sich: Die Gelatine und das Agar wurden im Wasserbade flüssig gemacht und zum Abkühlen bis auf 40° hingestellt. Jedem Reagensglas mit flüssigem Nährmaterial wurden 3 Normalösen des Ausgangsmaterials, verdünnt, wie oben erwähnt, zugesetzt. Der Inhalt der Reagensgläser wurde in sterile Petri-Schalen gegossen und in den Thermostaten bei bzw. 22° und 37,5° gebracht. Nach Verlauf einiger Tage wurden die Platten herausgenommen und auf die gewöhnliche Art makroskopisch und mikroskopisch untersucht. Von den Gelatineplatten wurde auf die Gelatine und von den Agarplatten auf den Agar übergesät.

Vom eigentlichen Rohmaterial wurden Präparate angefertigt, teils ungefärbt (d. h. im hängenden Tropfen) und teils nach Gram gefärbt und in Neutralrot nachgefärbt.

Gärproben: Um zu untersuchen, ob die betreffende Bakterie in

Reinkultur Zuckerarten zu vergären vermochte, wurde eine Bouillon bereitet, der 2 Proz. der betreffenden Zuckerart zugesetzt wurden; diese wurde auf die Reagensgläser verteilt und nach Durhams Methode untersucht. Alle Gärproben wurden auf diese Weise ausgeführt.

Isolierung acidophiler Bakterien: Zu diesem Zwecke wurde Bouillon mit bzw. $\frac{1}{2}$ und 1 Proz. Milchsäure bereitet (Br. Heymann), der ein Teil des eigentlichen Rohmaterials zugesetzt wurde, und das Ganze wurde bei 37° in den Thermostaten gebracht. Nachdem es dort ein paar Tage gestanden hatte, wurde auf gewohnte Weise die Ausbreitung vorgenommen.

Isolierung thermophiler Bakterien: Zur Gewinnung thermophiler Bakterien wurde das Rohmaterial mit sterilem Wasser verdünnt. Alsdann wurde es 10 Minuten lang auf 70° erwärmt, und unmittelbar darauf erfolgte die Ausbreitung.

Isolierung von Anaëroben: Der Züchtungsapparat war der bekannte von Gabritschewski, durch den Wasserstoff aus Kipps Apparat geleitet wurde.

Tierversuche: Die Impfungen an Tieren geschahen immer intraperitoneal. Es wurde eine ca. 8 Tage alte Bouillonkultur der betreffenden Bakterien angewandt.

Die Indolprobe: Die Indolreaktion wurde nie nach der hier bei uns so allgemein angewandten Methode von Salkowski ausgeführt. Wir haben vielmehr überall Ehrlichs Indolreaktion benutzt, die im Vergleiche mit der von Salkowski bedeutend sicherer und empfindlicher ist. Wir haben bei dieser Gelegenheit einen Vergleich dieser Reaktionen mit derselben Reihe von Coli-Kulturen gemacht, wobei es sich gezeigt hat, daß die Reaktion nach Ehrlich in vielen Fällen positiv war, wenn sich dieselbe Kultur bei der Reaktion von Salkowski negativ zeigte. Als Nährmedium für Bakterien wurde, wenn die Indolreaktion geprüft werden sollte, 1-proz. Peptonwasser angewendet.

Die Reagentien zur Ehrlichschen Reaktion sind am besten folgende:

- 1) Paradimethylamidobenzaldehyd 4
Alkohol (96-proz.) 380
Konz. Salzsäure 80
- 2) Kaliumpersulfat in wässriger Lösung.

Zu ca. 10 ccm der Kultur, welche zu untersuchen ist, bringt man 5 ccm der Lösung 1 und 5 ccm der Lösung 2, worauf die Mischung geschüttelt wird. Beim Vorhandensein von Indol entsteht sofort eine intensive rote Farbe, deren Intensität abnimmt, wenn sie längere Zeit steht. 5 Minuten sind indessen ausreichend, um den Ausgang der Reaktion zu bestimmen.

Schwefelwasserstoffprobe: Das Vorhandensein von Schwefelwasserstoff wurde auf die einfache Weise bestimmt, daß über die Mündung des Kulturglases ein Streifen Filtrierpapier gehalten wird, das im voraus mit Bleiacetat durchtränkt war.

Farbstoffreduktionen: Ob eine Bakterie gewisse Farbstoffe zu reduzieren vermochte, wurde durch Züchtung auf Agar konstatiert, dem diese zugesetzt waren; besonders wurde Endos Fuchsinulfatlaktoseagar angewandt. Dieser bestand aus Agar, dem in 1 Liter 10 g Laktose, 5 ccm einer 10-proz. alkoholischen Fuchsinlösung und 25 ccm einer frisch bereiteten 10-proz. Natriumsulfatlösung zugesetzt waren. Endos Agar ist schwach gelblich; die Bakterienreaktion zeigt sich in der Weise, daß die Platte stark rot wird.

A. Der ausgewachsene Ochse.

Pansen.

Die Konsistenz war auf Grund der unverdauten Nahrung immer sehr hart und grob. Die Bakterien, welche sich hier isolieren lassen, sind sozusagen dieselben, welche man aus Erd- und Heuinfusen bekommen kann. Die Coli-Bakterien sind aus irgendeinem Grunde merkwürdigerweise hier im Pansen geringer an Zahl. Es sind hauptsächlich die resistenten Erdbakterien, die die Platten nach der Verteilung beherrschen. Der *Actinomyces* ist an dieser Stelle des Verdauungskanals immer zu finden. Es handelt sich dabei um *Actinomyces albus* (Bakterie No. 1). Wir treffen hier außerdem eine ganze Reihe von Bakterienformen an, die zur Subtilis-Gruppe gehören. *Bacillus mycoides*, *B. mesentericus vulgaris* und *B. megatherium* sind sehr gewöhnlich. Außerdem findet sich eine Menge verschiedener Mikrokokken, Staphylokokken und kurzkettenförmige Streptokokken; alle avirulent. Um einen Typus zu nennen, der sich sehr oft isolieren ließ, können wir auf Bakterie No. 2 verweisen. Dieser *Micrococcus* gleicht in kultureller Beziehung dem *Micrococcus pyogenes albus*, war aber, wie gesagt, nicht pathogen.

Der Netzmagen.

Konsistenz hart und breiig, die Farbe bräunlichgrün; Reaktion neutral oder schwach sauer. Die Anzahl der gramnegativen Stäbchen ist hier größer als im Pansen. Hier fand sich, wenn auch nicht so häufig, *Bact. Güntheri*. Außer diesem wurden auch die gewöhnlichen Formen von *B. subtilis*, *megatherium* und *mesentericus* isoliert. An Mikrokokken war der Netzmagen besonders reich. Mehrere Male ist der *Streptococcus albicans* isoliert worden; er wird unter dem Netzmagen beim Kalbe näher erwähnt werden. Es waren sonst nicht-peptonisierende Mikrokokken, die sich häufig isolieren ließen.

Der Blättermagen und Labmagen.

Der Bakteriengehalt scheint hier in hohem Grade verringert zu sein. Die Konsistenz war dünnflüssig oder wie ein dünner Brei; die Farbe grünlich und die Reaktion stark sauer, jedenfalls, soweit es den Labmagen betrifft. Der *Actinomyces albus* ließ sich verschiedentlich isolieren, ohne daß sich besondere, merkwürdige Verhältnisse zeigten. In allen Fällen zeigten sich viele ovoide, streptokokkenartige, gramnegative Stäbchen mit kräftiger Vergärungsfähigkeit. Die gewöhnlichen, sporenbildenden Erdbakterien, die später behandelt werden, fanden sich auch hier. Die Anzahl der Mikrokokken war anscheinend bedeutend verringert.

Der Dünndarm.

Konsistenz dünnflüssig und in der Regel schleimig; Farbe gelbbraun; Geruch fäkal und erinnerte in einzelnen Fällen etwas an den von Malz. Die Reaktion war immer schwach sauer, jedenfalls in den oberen Abschnitten des Dünndarmes.

Das *Bact. coli* wird, wie wir später sehen werden, auch bei den Kälbern in diesen oberen Abschnitten nicht so häufig angetroffen. Dagegen haben wir in 2 Fällen *Bact. paracoli anindolicum* gefunden; übrigens nur 1mal.

Actinomyces albus zeigte sich hier im Dünndarm sehr häufig. Alle waren Oberflächen-*Actinomyces*, die vorzugsweise aerob wuchsen.

Von sporenbildenden Bakterien haben wir eine ganze Reihe isoliert. Die am häufigsten vorkommenden sind *Bac. subtilis*, *mesentericus*; der häufigste ist *Bac. mycoides*. Diese Exemplare von *B. mycoides* waren alle sehr stark fadenbildend. Es ist uns nie gelungen, aus der Erde so hübsche, fadenbildende *B. mycoides* zu isolieren, wie aus dem Darmkanal des Ochsen. Mikroskopisch betrachtet, haben sie viel mit dem *Bac. anthracis* gemein. Mitunter können die Sporen so hervortretend und die übrige Bakteriensubstanz so zurückgedrängt sein, daß das mikroskopische Bild sehr leicht mit einem *Streptococcus* verwechselt werden kann. Aus dem Journal gehen die näheren kulturellen Verhältnisse hervor (Bakterie No. 3). Außerdem ist auch der



Streptococcus elasticus.

Bac. tumescens (Zopf) isoliert worden; er weicht jedoch in einigen Punkten von den Angaben der Literatur ziemlich ab (Bakterie No. 4). Außer dem allgemeinen *B. mesentericus vulgatus* haben wir in einem einzigen Falle den selteneren *Bac. mesentericus ruber* gefunden. Endlich sei erwähnt, daß sich hier einige *Proteus*-Arten fanden, die ganz furchtbar stanken. Sie glichen am meisten dem *Proteus vulgaris*. Zuletzt sei noch eine sporentragende Bakterie angeführt, die in einigen Fällen gefunden wurde, sich aber nicht identifizieren ließ (Bakterie No. 5).

Außer diesen sporentragenden Bakterien müssen wir auf das Journal verweisen, welches einige Formen behandelt, die in verschiedener Weise Aehnlichkeit miteinander haben, und die in der Literatur nicht ihresgleichen haben (Bakterie No. 6 und 7).

Von Streptokokken haben wir nur 1 isoliert. Dieser, den wir in der Literatur nicht beschrieben gefunden haben, ist sehr eigentümlich. Wir bezeichnen ihn als *Streptococcus elasticus*, weil eine seiner

merkwürdigsten Eigenschaften die ist, daß er außerordentlich elastische Kulturen bildet. Wenn man die Platinnadel in die Oberfläche der weißlichen Kolonie steckt, kann man die Nadel aus dem Reagensglas ziehen, ohne daß die Kolonie sich von der Nadel oder dem Nährmedium löst. Wenn sie sich an einer Stelle löst, zieht sie sich sofort wieder zu einem kleinen Klumpen zusammen. Mikroskopisch sieht es aus, als ob die schnurgeraden Ketten von homogenen, langgestreckten Fäden umgeben wären. Diese Fadenelemente werden leicht durch Mucinkarmin und andere mucinfärbende Stoffe gefärbt (Bakterie No. 8).

Von Diplokokken haben wir den von Unna beschriebenen *Micrococcus citrinus* oder *Diplococcus citreus liquefaciens* gefunden. Außerdem haben wir auch mit Bestimmtheit den von Marpmann in frischer Kuhmilch gefundenen *Micrococcus lacticus* nachweisen können. Wir haben hier auch eine avirulente Form des *Micrococcus pyogenes albus* (Rosenb.) gefunden (Bakterie No. 9). Dieser war im Dünndarm des ausgewachsenen Ochs nicht sehr selten anzutreffen.

In einer verhältnismäßig großen Anzahl von Fällen haben wir den *Micrococcus candicans* (Flügge) gefunden und ferner noch einen *Micrococcus*, der ohne Zweifel mit dem *Micrococcus saccatus* (Mig.) identisch sein muß. Endlich fanden wir einen *Micrococcus*, der dem *Microc. rubellus* (Mig.) sehr ähnlich ist, von dem wir aber annehmen müssen, daß es derselbe sei, den Hüttemann beschrieben und im Darmkanal des Ochs gefunden hat, und den er mit α bezeichnet (Bakterie No. 10).

Obgleich es mehrmals versucht ist, anaerobe Bakterien hier aus diesem Abschnitte zu isolieren, ist es doch nie gelungen, auch nur einige zu bekommen. In der Regel zeigte es sich, daß es fakultative Anaerobionten, wie z. B. *Micrococcus candicans*, waren, die auf diese Weise isoliert wurden.

Coecum.

Die Konsistenz des Cöcalgehaltes war immer dick und breiig; die Farbe bräunlichgrün und die Reaktion alkalisch oder neutral. Der Geruch war merkwürdigerweise oft bei weitem nicht so fäkal, wie er es bei den Kälbern war.

Das *Bact. coli* war hier im Coecum auch nicht so zahlreich wie bei den Kälbern. Der *Actinomyces albus* ist recht oft gefunden worden; am häufigsten aber kommt *B. mycoides* wohl vor. Es zeigte sich stets derselbe hübsche, fadenbildende *B. mycoides*, wie er oben erwähnt ist. Unter anderen sporentragenden Erdbakterien ist eine zu erwähnen, die sich mit keiner bisher beschriebenen identifizieren läßt (Bakterie No. 11). Das Aussehen der letzteren auf der Kartoffel ist sehr hübsch und charakteristisch.

Proteus vulgaris ist in diesem Abschnitt gefunden worden, sowie auch eine Bakterie, die nur einmal isoliert wurde. Sie erinnert im ganzen mikroskopischen Aussehen sehr an den *Streptococcus mesenterioides* (Mig.), stimmt jedoch in kultureller Beziehung nicht ganz damit überein (Bakterie No. 12). Auch einige einfach gefärbte Mikrokokken sind hier gefunden worden, aber keine Streptokokken.

Der Dickdarm.

Die Reaktion war immer neutral, der Geruch fäkal, die Farbe bräunlichgrün und die Konsistenz dick und breiig.

Das *Bact. coli commune* scheint in größerer Anzahl als im Coecum vorhanden zu sein. Alle isolierten Coli-Stämme sind auf ihre Reduktionsfähigkeit den Farbstoffen gegenüber geprüft worden. Fuchsin-sulfitlaktoseagar wurde von allen Stämmen reduziert. Sie wurden auch dem Löfflerschen Malachitgrünagar gegenüber geprüft, wo sie bekanntlich sehr schlecht zur Entwicklung kommen. Es fand sich unter den isolierten Coli-Bakterien keine, die hinsichtlich der für die typischen Coli bestimmenden kulturellen Beziehungen im geringsten abwich. Hier fand sich im Abschnitte, wenngleich nur wenige Male, *Bact. lactis aërogenes*.

Außerdem fand sich auch in einigen Fällen *Bact. Güntheri* (Lehm. und Neum.).

Auch *Actinomyces albus* wurde einige Male gefunden; er ist hier aber nicht so häufig wie in den obersten Abschnitten. Von sporentragenden Bakterien haben wir die gewöhnlichen Formen von *B. mesentericus*, *B. subtilis* — und *B. mycoides* gefunden. Diese sind wohl immer unter den sporenbildenden Bakterien zu finden. Wir haben hier auch eine größere Anzahl von Bakterien mit sehr lebhaften, vibrionenartigen Bewegungen gefunden, desgleichen den *Bac. megatherium* gefunden, jedoch nicht so häufig. Er scheint hinter den anderen, gewöhnlichen Erdbakterien etwas nachzustehen.

Das später so häufig angeführte, sporenbildende Stäbchen mit den lederartigen Häutchenbildungen auf den Nährsubstraten war hier auch zu finden. Es ist uns aber nicht gelungen, Mikrokokken aus dem Dickdarme zu isolieren. Dagegen haben wir durch anaerobe Züchtung einige Bakterien isolieren können, die jedoch nicht streng, sondern nur fakultativ anaerob sind. Beide Stämme sind (Bakterien No. 13 und 14) nahezu identisch mit dem von Neubauer beschriebenen, fakultativ anaeroben Bakterienstamm II; sie wurden in 2 Fällen gefunden, jedoch nicht bei demselben Ochsen.

Rectum.

Die Reaktion war neutral oder sehr schwach alkalisch, die Farbe bräunlich und die Konsistenz hart und knollig. Der *Actinomyces* fand sich hier, wie im Dickdarm, aber nicht besonders häufig. Selbstverständlich waren Coli in großer Menge vorhanden, jedoch ohne besondere, charakteristische Eigenschaften. Die sporenbildenden Bakterien bestanden meistens aus *Bacillus mycoides*, *B. mesentericus* und in einzelnen Fällen aus *B. megatherium*. Die *Mesentericus*-Formen, welche sich hier fanden, waren nicht alle der gewöhnliche *Bac. mesentericus vulgatus* (Flügge), sondern ebenso oft *Bac. mesentericus fuscus* (Flügge) und nahestehende Formen, die zu dieser letzteren gehörten.

Erwähnt sei noch eine dieser sporenbildenden Formen, die zur *Mesentericus*-Gruppe zu rechnen ist und in einzelnen Punkten etwas von den gewöhnlich beschriebenen Formen abweicht.

Es ist mir nicht gelungen, Mikrokokken aus dem Rectum zu isolieren; ob das Fehlen derselben seinen Grund darin hat, daß das gewaltige Wachstum der Coli- und Erdbakterien dieselben unterdrückt hat, weiß ich nicht.

Dagegen ist *Proteus vulgaris* einige Male isoliert worden.

B. Kälber, 3—5 Monate alt.

In den ersten Wochen, nachdem das nüchterne Kalb aufgehört hatte, Milch zu bekommen, macht die Darmflora den Eindruck, als ob sie sehr variierte. Es scheint die Einwanderung der fremden Bakterien mit dem neuen Futter für das Auftreten eines merkwürdigen Artenreichtums Anlaß zu geben. Ein großer Teil der Kokken und resistenter Erdbakterien scheint den Darmkanal zu beherrschen.

Der Pansen.

Die Anzahl der Bakterien, die zur Coli-Gruppe gehören, ist hier im Pansen stark verringert, so daß in mehreren Untersuchungen nicht ein einziger Coli-Bacillus nachgewiesen werden konnte. Die Flora zeigt im übrigen ein sehr variierendes Aussehen. Absolut konstant tritt der *Actinomyces* auf, der sogar so vorherrschend sein konnte, daß man oft glauben könnte, es handele sich um eine Reinkultur. Der isolierte, oben erwähnte *Actinomyces albus* konnte bezüglich des Aussehens auf der Gelatine und der Vermehrungsschnelligkeit etwas variieren. Während wir aus dem Pansen auf die Weise einen großen Teil isolierten, die alle den vorhin erwähnten glichen; wichen sie in 2 Fällen ziemlich von den anderen ab. Wie erwähnt, wächst dieser *Actinomyces* sozusagen nur an der Oberfläche der festen Nährsubstrate. Hier haben wir aber aus dem Pansen 2 isoliert, die ebenso gut in der Tiefe wachsen, jedoch näher der Oberfläche, als dem Boden des Glases (Bakterie No. 15).

Die sporenbildenden Erdbakterien sind sehr reichlich im Pansen vorhanden. Vielleicht sind ca. 75 Proz. der gesamten Bakterienmenge resistente Erdbakterien, die zur *Subtilis*-Gruppe gehören. Aus dem Journal können wir einige hervorheben, die sich immer finden. Bakterie No. 16 z. B. gleicht am meisten dem *Bacillus mesentericus vulgaris* (Flügge). Ein anderer Typus einer Erdbakterie, der sich immer im Darmkanal findet, also nicht speziell im obersten Abschnitt, sondern überall im Verdauungskanal, ist näher zu erörtern (Bakterie No. 17). Dieser Typus einer sporenbildenden Bakterie ist sehr allgemein, kann aber morphologisch und kulturell ziemlich variieren. Sie gehören gewissermaßen zur *Subtilis*-Gruppe, obgleich sie etwas von dem gemeinen *Bacillus subtilis* abweichen. Eine Form ist nur im Pansen angetroffen (Bakterie No. 18).

Schließlich sei noch erwähnt, daß wir von bekannteren Formen in einzelnen Fällen *Bact. coli*, *Bacillus mesentericus* und *Bac. subtilis* isoliert haben.

Kokken finden sich wohl kaum in anderen Darmabschnitten so zahlreich wie im Pansen. Außer einer großen Anzahl von Staphylokokken finden sich auch zahlreiche Streptokokken. Keiner derselben ist für Mäuse pathogen. Der *Staphylococcus*, welcher am häufigsten isoliert worden ist (Bakterie No. 19), ist kulturell identisch mit dem *Staphylococc. aureus*, aber ganz avirulent.

Ein *Micrococcus*, der in 2 Fällen aus dem Pansen isoliert wurde, ist identisch mit dem von Henrici beschriebenen *Micrococcus cyclops*, der im Schweizerkäse gefunden worden ist.

Betreffs anderer Mikrokokken ist anzuführen, daß in einem einzelnen Falle einer isoliert worden ist, der ohne Zweifel mit dem *Micrococcus albocereus* (Mig.) verwandt sein muß. In 3 Fällen ist der

Streptococcus acidilactici isoliert worden; alle stimmten mit dem beschriebenen morphologischen und kulturellen Verhalten überein.

Der Netzmagen.

Im Netzmagen ist der *Actinomyces* ebenfalls sehr gewöhnlich; er ist überwiegend von der Art, welche aërob und fakultativ anaërob wächst. Es wurden jedoch von der Agar- und Gelatineplatte 2 Exemplare isoliert, die nur aërob wachsen. Ein anderer *Actinomyces* war in seinem Tiefenwachstum auf Agar besonders eigentümlich; es sah aus, als ob er in der Tiefe verkalkt wäre. Daß der *Actinomyces* gewöhnlich in einem späteren Zeitpunkte an der Oberfläche ein kalkartiges Aussehen bekommt, ist nicht selten, dagegen ist dieses in der Tiefe nicht gewöhnlich. Außerdem wuchs dieser *Actinomyces* sehr schnell, was sonst selten der Fall ist. Er war für Mäuse nicht pathogen. Ungefähr 80 Proz. aller untersuchten Kälber hatten *Actinomyces* im Netzmagen.

Am auffälligsten ist hier im Netzmagen die große Anzahl von Milchsäurebakterien. Mit wenigen Ausnahmen ließ sich *Bac. Güntheri* (*Streptococcus acidilactici*) immer isolieren.

Außer dieser Milchsäurebakterie, die auch Ankersmit zu den obligaten Darmbakterien zählt, haben wir hier im Netzmagen ebenso oft ein sehr langes Milchsäurestäbchen (Bakterie No. 20) gefunden. Die Fähigkeit desselben, Milch zu koagulieren, war sehr bedeutend. Es wurde gleich häufig von der Gelatineplatte und der Agarplatte isoliert.

Von sporenbildenden Bakterien findet sich kaum eine so große Anzahl, wie im Pansen. Einzelne *Subtilis*- und *Mesentericus*-Formen, namentlich *Mesentericus fuscus* waren häufig. Einige der isolierten *Subtilis*-Formen zeigten Trommelschlägerform, die hier im Darmkanal nicht ganz selten anzutreffen ist. Viele dieser sporenbildenden Bakterien sind auf Grund ihrer sehr lebhaften Vibrionenbewegung im hängenden Tropfen geradezu eigentümlich. Die Stäbchen sind oft zu längeren Fäden zusammengekettet, so daß es schwierig genug sein kann, zu bestimmen, wo die eine Bakterie aufhört und die andere beginnt.

Die Anzahl der gramnegativen Bakterien im Netzmagen ist gering. Nur das *Bacterium coli commune* ließ sich einige Male isolieren.

Mikrokokken und kurzkettenförmige Streptokokken finden sich in reichlicher Menge. Von Mikrokokken ist der *Micrococcus candidans* (Flügge) zu nennen, der aber nur in 2 Fällen gefunden worden ist. Außerdem ist auch in 2 Fällen der unter dem Pansen beschriebene *Micrococcus cyclops* (Henrici) gefunden worden. Endlich ist ein *Micrococcus* zu nennen, der sich mit keinem der bekannten (Bakterie No. 21) identifizieren läßt.

An Streptokokken ist der Netzmagen besonders reichhaltig gewesen. Mit wenigen Ausnahmen waren es alles Arten, die die Gelatine nicht verflüssigen. Derjenige, welcher am häufigsten isoliert worden ist, ist dem von Tataroff gefundenen *Streptococcus albicans* (Bakterie No. 22) sehr ähnlich. Dieser und eine große Reihe anderer isolierter Streptokokken waren in der Regel Diplostreptokokken. Abgesehen davon, daß sie kürzere oder längere Ketten bilden, sieht man sie auch klumpenweise liegen, was sich vielleicht durch die Präparationsmethode für die Dauerpräparate erklären läßt. Außer diesem *Streptococcus albicans* haben wir einige Streptokokken isoliert, die morphologisch einigermassen dasselbe Aussehen haben, sich aber kulturell bedeutend

anders verhalten (Bakterie No. 23). Diese dem *Streptococcus al-bicans* ähnlichen Formen erinnern sehr an den von Grönig aus dem Ochsendarm isolierten Stamm No. XVI. Von peptonisierenden Streptokokken sei nur die Bakterie No. 24 angeführt.

Der Blättermagen.

Der Bakteriengehalt des Blättermagens scheint geringer zu sein als der der beiden vorhergehenden Darmabschnitte. Der *Actinomyces* ist hier in ebenso vielen Fällen wie im Netzmagen vorhanden. Das *Bacterium coli commune* ist hier zahlreicher als im Pansen und dem Netzmagen. Außer den allgemeinen typischen Wachstumsmöglichkeiten und den morphologischen Verhältnissen sei bemerkt, daß alle aus dem Blättermagen isolierten Coli im Besitze einer ungewöhnlich mächtigen Vergärungsfähigkeit waren. Nach ca. 10 Stunden war die Agarsäule, worauf sie gesät waren, vollständig in die Höhe getrieben und von Luftblasen durchdrungen. Ein einzelner *Staphylococcus* (Bakterie No. 25) wurde in einigen Fällen gefunden.

Von stäbchenförmigen Erdbakterien sind *B. subtilis* und *mesentericus* am häufigsten. Einzelne mit lebhafter Vibrionenbewegung werden noch angeführt werden (Bakterie No. 26).

Die vorhin aus dem Pansen beschriebene, sporenbildende Erdbakterie, die den charakteristischen lederartigen Wuchs auf Agar hat, wurde im Blättermagen recht oft gefunden. Die älteren Kulturen bilden einen bräunlichen Farbstoff, der nach und nach in den Agar hinabdringt; es bleibt also nicht eigentliches Oberflächenwachstum bestehen, das die ganze Zeit hindurch gelblichweiß ist.

Der Labmagen.

Am auffälligsten bei den Untersuchungen im Labmagen war es, daß die Bakterienanzahl bedeutend gesunken war. In vielen Fällen waren die Gelatineplatten und die Agarplatten ganz steril, wenn die bisher benutzte Verdünnung angewandt wurde. Es mußte jedesmal aus der ersten Verdünnung ausgestreut werden, um überhaupt ein Wachstum auf den Platten zu bekommen. Bemerkenswert war auch der Umstand, daß die Reaktion immer stark sauer und die Konsistenz sehr dünnflüssig war.

Die Bakterien, welche am häufigsten isoliert wurden, waren sporenbildende, wie *B. subtilis*, *mycoides* und *mesentericus*. Von anderen bekannten Formen fand sich in wenigen Fällen *Bacillus fluorescens liquefaciens*. Der *Actinomyces albus* war sehr häufig. *Bacterium coli* fand sich nur wenige Male, dagegen war, außer einer Reihe von Hefezellen, das *Penicillium glaucum* sehr gewöhnlich.

Es wurde eine anaerobe Züchtung auf Kreidebouillon von einigen Kälbern, jedoch ohne positives Resultat, in der gewöhnlichen Weise bei 37° mit Durchleitung von Wasserstoff aus dem Kipp-Apparat vorgenommen.

Der Dünndarm (oberste Hälfte).

Die Reaktion im obersten Abschnitt des Dünndarmes war immer mehr oder weniger sauer. Die Konsistenz war dünnflüssig und schleimig, die Farbe hellgelb, der Geruch fade. In einigen Fällen wurde an dem Rohmaterial die Indolprobe nach Ehrlich gemacht; für den Dünndarm war die Reaktion negativ. Trotzdem die Indolreaktion negativ ausfiel,

wurde in den allermeisten Fällen *Bact. coli* gefunden, was sich wohl dadurch erklären läßt, daß die *Coli* in diesem Teile des Darmes nicht recht zur Entwicklung kommen. Im Coecum und Rectum dagegen war die Reaktion immer positiv. Aus diesem Darmabschnitt wurden wiederholt Aussaaten auf Drigalski-Conradi-Platten gemacht, um, wenn möglich, einige Bakterien isolieren zu können, die zur Paratyphusgruppe gehören, doch wurden nie Bakterien gefunden, die sich als zur genannten Gruppe gehörig identifizieren ließen. Der Agar nach Drigalski-Conradi wurde nach der modifizierten Methode des Serum-instituts in folgender Zusammensetzung hergestellt: Fleisch-Pepton-Agar (3 Proz. Agar); 100 ccm Fleisch-Pepton-Agar werden 15 ccm Lakmuslösung und $1\frac{1}{2}$ g Laktose zugesetzt. Die beiden zuletzt genannten Teile werden zuerst 1–5 Minuten lang in einem kleinen Kolben gekocht und dann wird 1 ccm Kristallviolett (1-proz. Lösung) zugesetzt.

Wie gesagt, ist es nicht möglich gewesen, Bakterien der Paratyphusgruppe zu isolieren, was ja bei gesunden Ochsen auch eine Seltenheit ist. F. Eckert, welcher Untersuchungen hierüber angestellt hat, fand bei 16 gesunden Ochsen nur in einem Falle eine, die zur Paratyphus-Suipestifer-Gruppe gehört.

Die hier isolierten *Bacterium coli* variieren etwas in bezug auf ihre Vergärungsfähigkeit. Die eine Hälfte, welche die mächtige Vergärungsfähigkeit besaß, wuchs feigenblattförmig auf der Gelatine- oder Agarplatte, während die anderen, weniger gärungsfähigen auf den Platten als dicke, verkleisterte Beläge in regelmäßigeren Formen wuchsen. Alle waren sehr lebhaft bewegliche, gramnegative Stäbchen mit reichlicher Indolproduktion. Nur in 1 Falle konnten wir ein *Bacterium coli* anaërogenes isolieren. *Actinomyces albus* ist merkwürdigerweise hier im obersten Abschnitt des Dünndarmes nicht isoliert worden.

Von den resistenten, sporenbildenden Bakterien haben wir *Bacillus mesentericus*, *mycoides* und verschiedene *Subtilis*-Formen gefunden, außerdem die im Pansen im Journal beschriebene, sporenbildende Bakterie und einige Abarten, die alle dieser sehr ähnlich sind. Wir führen hier einige derselben an, da sie immerfort wiederkehren (Bakterie No. 27). Endlich ist noch eine sporenbildende Bakterie zu erwähnen (Bakterie No. 28). Diese sporenbildenden Bakterien sind fast jedesmal isoliert worden und werden in diesen Abschnitten des Darmrohres immer zu finden sein. Auch der *Bacillus fluorescens liquefaciens* ist hier gewöhnlich.

Außer den stäbchenförmigen Bakterien fanden sich immer außerordentlich viele farbige Staphylokokken. Eine ganze Reihe zeigte, abgesehen davon, daß die Gelatine nicht verflüssigt wurde, keine besonderen kulturellen Eigentümlichkeiten (Bakterie No. 29). Andere verflüssigten die Gelatine auf dieselbe Weise wie der *Staphylococcus pyogenes albus* (Bakterien No. 30 und 31). Außer diesen genannten finden sich rote, zitronengelbe und braune Staphylokokken, die die Gelatine verflüssigen (Bakterien No. 32, 33, 34). Diese ganze Reihe der Mikrokokken war für Mäuse nicht pathogen. In den vorläufigen Präparaten der Rohmaterialien fanden sich in mehreren Fällen kurzkettenförmige Streptokokken; es ist jedoch nie gelungen, aus diesem Abschnitte einige zu isolieren.

Der Dünndarm (unterste Hälfte).

Die Reaktion war immer neutral oder sehr schwach sauer, die Konsistenz dünnflüssig, aber weder schleimig noch fadenziehend. Die Farbe

variierte sehr von bräunlich, bräunlichgrün bis dunkelbraun. Der Geruch war in den meisten Fällen fäkal. Die Indolreaktion fiel immer positiv aus, wenn auch schwach.

Die Flora im untersten Teile des Dünndarmes ist nicht so gemischt wie im obersten Abschnitte. Hier findet sich eine ungemein lebhafte Coli-Vegetation von Formen, die jedoch nicht alle gleich sind. Ein großer Teil der isolierten Coli hat kokkoide Formen. Beim ersten Anblick im Mikroskop glaubt man, Mikrokokken vor sich zu haben, bei näherem Hinsehen aber mit homogener Immersion kann man noch gerade, vielleicht vermittle des Mikrometers, wahrnehmen, daß die Bakterien an der einen Seite länger sind als an der anderen. Sie sind an den Enden abgerundet und haben, im ganzen genommen, eine ovoide Form. Solche kokkoiden Formen des Coli sind von Cecil Revis beobachtet und beschrieben. Mitunter läßt es sich durch Messen nicht entscheiden, ob es ein Stäbchen oder ein *Micrococcus* ist; dies läßt sich nur entscheiden, wenn die biochemischen Verhältnisse dafür sprechen, daß es ein echter Coli ist (Bakterie No. 35). Es sei noch bemerkt, daß die kulturellen Verhältnisse dieser kokkoiden Formen etwas abweichend sind von denen des typischen Coli (vgl. Journ.). Außer diesen Coli finden sich 2 andere Coli-Formen, die sich kulturell auf der Gelatine- und Agarplatte verschieden verhalten. Die eine Form bildet immer eine perlenartige, gewölbte, spiegelblanke, homogene und mit scharf konturierten Rändern versehene Kolonie. Die andere Form zeigt Feigenblattform mit unregelmäßigen Rändern. Zwischen diesen beiden Formen wurde kein anderer Unterschied gefunden als im Plattenwachstum, abgesehen vielleicht von der Beweglichkeit, die am größten ist beim Feigenblatttypus. Hier im untersten Abschnitte des Dünndarmes gelang es auch, *Bact. coli anaërogenes* und den *Bacillus lactis aërogenes* verschiedentlich zu isolieren.

Von sporenbildenden Bakterien wurden *Bacillus mesentericus vulgatus*, *B. subtilis* und *B. megatherium* am häufigsten isoliert. Ferner trafen wir oftmals die im Journal vom Pansen beschriebene, sporenbildende Bakterie mit lederartigem Wachstum auf Agar.

Bacillus fluorescens liquefaciens ist mehrmals isoliert worden, wogegen *Actinomyces albus* nur einmal gefunden wurde, und zwar ausgeprägt aërob. Nie gelang es, einen *Staphylococcus* oder *Streptococcus* aus diesem Abschnitte zu isolieren. Auch wurden Streptokokken nicht in den vorläufigen Präparaten des Rohmaterials wahrgenommen.

Versuche, Bakterien der Paratyphusgruppe zu isolieren, ergaben kein positives Resultat.

Coecum.

Das Coecum ist ja der Herd der Coli, sagt Kohlbrugge, und es verhält sich wohl kaum anders. An keiner Stelle scheinen sich so viele Coli zu finden wie im Coecum. Die Reaktion war in den allermeisten Fällen neutral oder alkalisch. Die Konsistenz war in einem Falle recht dünnflüssig, sonst dick und breiig, die Farbe sehr dunkelbraun und der Geruch stark fäkal. Das Rohmaterial gab ausnahmslos eine sehr kräftige Indolreaktion.

Die vorläufigen Präparate des Rohmaterials zeigten große Mengen von gramnegativen Stäbchen von ungleicher Größe; einige waren groß und schlank, andere sehr klein und kokkoid. Die positiven Bakterien,

2*

die an Zahl weit zurückstanden, waren in der Regel dicke, plumpe oder lange, fadenförmige Stäbchen, oder auch einzelstehende Mikrokokken, Diplokokken und ab und zu schnurgerade Streptokokken in Form einer längeren Kette mit einer mukoiden Substanz zwischen sich. In einzelnen Präparaten fanden sich mehrmals verzweigte Actinomyceten und einige eigentümliche, an Spirochäten erinnernde Bakterien mit 4—12 sehr regelmäßigen Windungen. Sie waren grampositiv und ziemlich groß, ungefähr wie *Spirochaete buccalis*. Wie oben erwähnt, fand sich hier eine große Reihe von Streptokokken, die sehr den oben angeführten glichen und die wir *Streptococcus elasticus* nennen wollen; sie waren von ihrer mukoiden Bindesubstanz als Scheide umgeben.

Natürlich waren die Platten immer voll verschiedener Coli-Formen. Es fanden sich die vorhin erwähnten Coli mit ihrem variierenden Aussehen auf der Gelatine- und Agarplatte, sowie weiter kokkoide Formen in großer Anzahl und endlich *Bacterium coli anaërogenes*. Außerdem trafen wir hier sehr oft Coli, die, nach den gewöhnlichen Methoden gefärbt, Neigung zur sogenannten Polfärbung zeigten, d. h. die Fähigkeit, den Farbstoff an den Polen in höherem Maße aufzunehmen als in der Mitte. Abgesehen vom *Bacillus mesentericus*, *subtilis* und *megatherium* ist es uns nur in einigen Fällen gelungen, einen *Streptococcus* mit bis zu 8 Gliedern habhaft zu werden. Er verflüssigte Gelatine schalenförmig, war für Mäuse nicht pathogen und zeigte im übrigen nichts Besonderes. Wir scheinen es in diesem Abschnitte des Darmes fast mit einer Reinkultur zu tun zu haben.

Rectum.

Die Reaktion war immer neutral und die Farbe braunschwarz oder grünlichbraun, je nach der Beschaffenheit der Nahrung. Der Geruch war absolut fäkal und die Konsistenz hart und knollig. Die Indolreaktion fiel positiv aus, wenngleich schwächer als die Reaktion auf den Cöcalgehalt.

Trotzdem ein sehr großer Teil der isolierten Bakterien Coli-Formen sind, bekommt man doch den Eindruck, daß das Rectum ärmer ist an Coli als das Coecum. Hier finden sich natürlich alle früher erwähnten verschiedenen Coli-Formen, außer *B. coli anaërogenes*, das in ziemlich großen Mengen gerade in diesem Darmabschnitt gefunden wurde. Es ist bemerkenswert, daß die sehr stark luftentwickelnden Coli-Formen abnehmen, je weiter man sich von den obersten Darmwegen entfernt. Es überraschte uns auch, daß die Anzahl der Coli in den Wintermonaten stark herabgesetzt war im Vergleich zu den Sommermonaten. Eine sehr große Anzahl Coli mit Polfärbung wurde im Rectum gefunden. Ebenfalls zeigen die vorläufigen Präparate der Rohmaterialien, daß ein großer Teil der gramnegativen Stäbchen Polfärbung aufweist.

Streptokokken sind in diesem Abschnitt nie gesehen worden, jedoch kamen einzelne Diplokokken vor in Form sehr wenig dicker, plumper Stäbchen.

Von schlanken, dünnen, fadenbildenden Stäbchen findet sich hier eine ganze Reihe. Der *Actinomyces* findet sich dann und wann, ohne daß er jedoch sehr hervortritt. In einem einzelnen Falle wurde *Actinomyces chromogenes* Gasper. isoliert mit selten schöner Kolbenbildung. Außer diesem *Actinomyces* ist auch der gewöhnliche *Actinomyces albus* verschiedentlich isoliert worden.

Von sporenbildenden Bakterien ist ein Exemplar zu erwähnen, das vorher nicht gefunden worden war (Bakterie No. 36). Es erinnert sehr an die früher beschriebenen Bakterien mit der lederartigen Haut an der Oberfläche des Agars und der Gelatine, verhält sich aber in einigen Punkten etwas anders.

Die mikroskopische Untersuchung ergibt viele Typen derselben Bakterie; alle haben sporogene Granula. Diese Formen sind im Rectum in mehreren Fällen gefunden worden. Von bekannteren Formen fand sich der *Bacillus mycoides* am häufigsten, weniger häufig der *B. subtilis*. Abgesehen von einer Reihe von Hefe- und Schimmelpilzen fand sich nichts Erwähnungswertes.

C. Nüchterne Kälber.

Die Kälber, welche uns zur Verfügung standen, variierten im Alter von wenigen Stunden bis zu 4—5 Tagen. Das Untersuchungsmaterial wurde dem Labmagen, der Mitte der Dünndarmes, dem Coecum und Rectum entnommen. Die Meconiumfäces waren immer sehr zähe und elastisch. Der Labmagen war nur mit gelblichem Schleim gefüllt, wogegen im Coecum der Inhalt mehr einem dünnen Brei ähnlich war. Die Indolreaktion war überall negativ, ausgenommen im Coecum. Die Plattenkulturen auf Gelatine zeigten sozusagen nur nicht-peptonisierende, opalisierende Kolonien. Die einzige peptonisierende Bakterie, welche wir hier antrafen, war der *Bacillus fluorescens liquefaciens*. Alle nicht-peptonisierenden Kolonien besaßen eine mächtige Vergärfähigkeit. Es waren kürzere und längere gramnegative Stäbchen, die morphologisch recht verschieden waren. Die Größe variierte von kleinen, kurzen, ovoiden Stäbchen bis zu längeren Fadenformen. Sie waren immer mehr oder minder beweglich, und zwar sowohl peitschenförmig als auch schraubenförmig. Auf einen solchen Typus verweisen wir im Journal (Bakterie No. 37).

Außer diesem Typus fanden wir immer *Bact. Güntheri*. Sehr selten war eine ordentlich Indol produzierende *Coli*-Bakterie im Darmkanal der ganz jungen Kälber anzutreffen. Erst bei 3—4 Tage alten Kälbern fand sich eine große Menge von *Coli*, besonders im Rectum. Sehr häufig zeigten die isolierten *Coli* Polfärbung. Die Milchsäurestäbchen nehmen in den ersten Lebenstagen einen hervorragenden Platz im Darmkanal des Kalbes ein und werden an Zahl geringer, wenn die *Coli*- und andere Bakterien nach und nach die Oberhand gewinnen. Wie schon erwähnt, trafen wir sehr häufig den *Bacillus fluorescens* als den einzigen Repräsentanten der Gruppe der peptonisierenden Bakterien. Außer diesem fanden wir verschiedentlich, besonders im Dünndarme, eine schwach kommaförmige Bakterie, die peptonisierte und deren Kultur grünlich fluoreszierte. Dieser *Vibrio fluorescens*, wie wir ihn nennen wollen, war auffallend häufig; wir verweisen diesbezüglich auf das Journal (Bakterie No. 38). Zwischen den Bakterien in den verschiedenen Abschnitten des wenige Stunden alten Darmkanals fand sich kein großer Unterschied. In den beiden ersten Tagen war überhaupt kein besonderer Unterschied zu bemerken, aber nach 1—2 Wochen war ein solcher deutlich wahrnehmbar, indem die am meisten Gas entwickelnden Bakterien in den obersten Darmabschnitten zu-, weiter abwärts aber stark abnahmen, so daß schließlich nur sehr wenige im Rectum vorhanden waren. Der *Bacillus fluorescens liquefaciens* war

überall im Darmkanal anzutreffen, dagegen gelang es nicht, Mikrokokken zu isolieren oder beim neugeborenen Kalb mikroskopisch nachzuweisen.

D. Fütterungsversuche.

Als Objekte für die Fütterungsversuche wurden 2 ganz junge Kälber von 3 und 4 Monaten gewählt. Man konnte sie nicht gut jünger nehmen, da sie dann das Winterfutter nicht hätten vertragen können. Das Material aus dem Darmkanale wurde auf folgende Weise gewonnen: Nachdem die Kälber auf steriles Papier defäziert hatten, wurde davon unter sterilen Kautelen eine kleine Probe genommen, die in gewohnter Weise in sterile NaCl-Lösung gebracht wurde, von wo aus die Aussaat in der oben angeführten Weise erfolgte.

Der Versuch begann damit, daß die Kälber ca. 14 Tage lang bei Grünfutter Tag und Nacht im Freien gelassen werden, worauf sie in den Stall kamen, wo sie das gewohnte Winterfutter bekamen, welches aus Heu, Wasser und Rüben in der angegebenen Reihenfolge bestand. Auf diese Weise wurde 8 Tage lang verfahren. In Zwischenräumen von 3 Tagen wurde eine Probe der Faeces entnommen. Nachdem die Kälber 8 Tage lang Witterfutter bekommen hatten, erhielten sie 2 Tage lang ausschließlich Milch, die ihnen 3mal täglich gereicht wurde. Nach dieser Milchkur kamen sie auf die Weide, wo sie 8 Tage lang standen, bevor wiederum eine Probe entnommen wurde.

a) Grasfütterung I.

Die Konsistenz der Faeces war fest und breiig, der Geruch nahezu fäkal und die Reaktion neutral; die Farbe bräunlichgrün.

Die Agarplatten riechen alle nach Mäuseurin. Die Kolonien bilden fast alle dicke, verkleisterte, weißliche Beläge. Einige haben die Form von Blättern, andere sind ganz regelmäßig rund und scharfrandig.

Von isolierten Bakterien kommen *Bacillus mycoides*, *subtilis*, *megatherium* und die schon genannte Erdbakterie mit lederartigem Wachstum am häufigsten vor. Außerdem trafen wir die gewöhnlichen Coli-Formen, sonst wurden besonders interessante Bakterien nicht gefunden. Die Erdbakterien waren anscheinend häufiger als das *Bacterium coli*. Einige Male wurde auch *B. Güntheri* gefunden, aber nur verhältnismäßig selten.

b) Winterfütterung.

Die Konsistenz der Faeces war sehr dünn und breiig, die Farbe braun und der Geruch sehr unangenehm nach H_2S und Indol.

Der auffälligste Unterschied gegenüber der Grasfütterung lag darin, daß alle Platten furchtbar nach H_2S stanken. Später wurde auch der *Bacillus proteus vulgaris* einige Male isoliert und von peptonisierenden Bakterien *Bacillus fluorescens liquefaciens*. Ein weiterer großer Unterschied besteht darin, daß *Bacillus lactis aërogenes* sehr häufig war. Die Coli-Bakterien waren hier nicht viel zahlreicher als bei der Grasfütterung. Auch eine Reihe von Mikrokokken wurde isoliert, so z. B. *Micrococcus albocereus* (Mig.), sowie einige nicht-pathogene, kurzkettenförmige Streptokokken.

c) Milchfütterung.

Die Konsistenz der Faeces war bei den beiden Kälbern hier etwas verschieden; das kleinste, 3 Monate alte hatte eine diarrhöeartige De-

fäktion, während die des großen fest und breiig war. Die Farbe war braun und die Reaktion neutral.

Das Charakteristischste ist, daß nun eine große Anzahl von Günther-Stäbchen sowie eine größere Menge Coli-Bakterien auftritt. Das mikroskopische Bild des Rohmaterials zeigt auch bei der Milchfütterung ein ganz verändertes Aussehen, indem eine weit größere Anzahl von Mikrokokken, Diplokokken und Streptokokken auftrat; leider gelang es nicht, einige derselben zu isolieren. Die Anzahl der gramnegativen Stäbchen ist bedeutend vermehrt, bei denen sehr häufig Polfärbung wahrzunehmen ist. Häufig sieht man kokkoide Formen. Die Anzahl der sporenbildenden Bakterien ist bedeutend verringert; am häufigsten kommen *Bacillus mycoides* und *B. megatherium* vor.

d) Grasfütterung II.

Konsistenz der Faeces hart und knollig, Farbe sehr dunkelgrün, Reaktion neutral.

Es findet sich kein nennenswerter Unterschied in der Flora beim Uebergang von der Milch- zur Grasfütterung. Es zeigen sich viele Günther-Stäbchen und eine große Anzahl von Coli, die alle Milch- und Traubenzucker sehr stark vergären. Wir haben ferner den Eindruck gewonnen, daß alle isolierten Coli-Stämme während der Grasfütterung weniger Indol produzieren. Die Anzahl der sporenbildenden Bakterien scheint nur wenig verschieden zu sein; vielleicht tritt *Bacillus mycoides* während der Grasfütterung häufiger auf als bei Milchfütterung. Die vorläufig gefärbten Präparate des Rohmaterials zeigen einige Diplokokken, von denen jedoch keiner isoliert worden ist. Streptokokken waren weder mikroskopisch noch kulturell nachzuweisen.

Besumé und Diskussion.

Das den Resultaten zugrunde liegende Material ist folgendes: Wir haben im ganzen 105 Ochsen untersucht, von diesen waren 85 Kälber im Alter von 3—4 Monaten, 10 nüchterne Kälber und 10 ausgewachsene Ochsen. Wir wollen zunächst nur ganz kurz das Auffälligste und Bezeichnendste bei jedem Abschnitt des Darmkanals berühren:

Ein eigentlicher Unterschied zwischen der Flora des ausgewachsenen Ochsen und der des Kalbes im Alter von wenigen Monaten besteht nicht. Die Flora des Pansens ist durchaus nicht konstant, denn hier treffen wir sozusagen alle Formen an, die sich frei in der Natur finden, d. h. in der Erde und auf den Pflanzen. Ja wir glauben, daß der Pansen die Stelle ist, wo man am besten die Bakterien finden kann, welche in der Erde vorkommen. Er ist ein guter Thermostat für Bakterien, die bezüglich der Nahrung keine zu großen Ansprüche machen. Die Untersuchung der Flora des Pansens scheint auch zu ergeben, daß eine eigentlich feste Bakteriengruppe die Herrschaft hier nicht an sich gerissen hat. Besonders aber kommen Mikrokokken, Staphylokokken und kürzere Streptokokken in erstaunlichem Grade hier zur Entwicklung, und es gibt im Darmkanal nicht viele Stellen, wo sie sich relativ so reichlich wie im Pansen finden. Vielleicht hat das darin seinen Grund, daß die Lebensfähigkeit der anderen Bakterien noch nicht so spezialisiert und intensiv ist, wie sie es später in den untersten Abschnitten des Verdauungskanals wird. Außerdem ist zu bemerken, daß im Pansen mächtige Vergärungsprozesse vor sich gehen, bei denen die Luft eine Hauptrolle spielt, da er ja der

Abschnitt des Verdauungskanal ist, welcher am meisten mit Luft gefüllt ist. Ein großer Teil Luft wird natürlich mit der Nahrung eingeführt, ein wesentlicher Teil des Luftgehaltes des Pansens aber ist Vergärungsluft von den Bakterien. Der Pansen stinkt immer sehr stark nach H_2S , und die meisten Bakterien finden hier ihre Optimaltemperatur; die alkalische Reaktion, welche vom Maulspeichel herrührt, trägt auch dazu bei, daß die Bakterien sogleich unter die bestmöglichen Lebensbedingungen kommen. Sonderbar ist es jedoch, daß wir aus dem Pansen nur 1 *Actinomyces albus* isolierten, der streng aërob war, aber nie einen, der fakultativ anaërob war, wie dies so oft in den übrigen Darmabschnitten der Fall war. Ob das daran liegt, daß die Sauerstoffspannung im Pansen größer ist als in den übrigen Abschnitten, können wir nur vermuten, denn es wäre ja vielleicht denkbar, daß bei dieser größeren Spannung die streng Aëroben sehr schnell zur Entwicklung kämen.

Im Netzmagen ist eine eigentümlichere Flora, bestehend aus dem sehr häufigen *Bact. Güntheri* und langen Milchsäurestäbchen, was sicher damit zusammenhängt, daß die oberen Abschnitte hier besonders reich an Kohlehydraten sind. Jedenfalls nehmen die kohlehydratspaltenden Bakterien an Zahl ab, die proteinstoffspaltenden aber an Zahl zu, je weiter man sich dem Anus nähert. Wir haben eine Reihe von Versuchen zur Aufklärung dieser Frage gemacht. Der positive Erfolg der Indolreaktion wurde dabei als Ausdruck dafür genommen, daß die Proteinstoffe gespalten waren; es zeigte sich nun, daß, wenn einer Dextrosepeptonkreidebouillon ein *Bact. coli* zugesetzt wurde und dann in regelmäßigen Zwischenräumen die Reaktion auf Indol vorgenommen wurde, die Reaktion erst positiv ausfiel, wenn der Zucker vergoren war.

Daß die Bakterien sich ganz bestimmten Verhältnissen anpassen können und sich aus diesen sehr schlecht wieder losreißen lassen, zeigen die isolierten *Coli* dadurch, daß sie eine sehr starke Vergärungsfähigkeit besitzen, wenn sie aus den oberen Abschnitten stammen, während die aus dem Rectum isolierten nur sehr wenig befähigt sind, während der Luftentwicklung Zuckerarten zu vergären, weil die Bakterien da im Besitze einer weit größeren Lebensenergie sind (Cecil Revis).

Im Blättermagen scheint diese Vergärungsfähigkeit auch eine große Rolle zu spielen; die hieraus isolierten Milchsäurebakterien und *Coli* waren alle in voller Lebenskraft. Die saure Reaktion des Labmagens setzt die Bakterienanzahl bedeutend herab; wir finden hier fast ausschließlich *Coli*, Milchsäurebakterien und sporenbildende Bakterien. Aus diesem Abschnitt und dem Dünndarm wurde eine sehr große Anzahl peptonisierender Bakterien isoliert, auch scheint es, als ob die beweglichen Bakterien hier mehr die Oberhand gewinnen. Die Streptokokken, welche von hier isoliert wurden, bestanden oftmals aus längeren Ketten, als dies in anderen Abschnitten der Fall war. Im untersten Teile des Dünndarmes beginnt das *Bact. coli* erst richtig zu florieren, und zwar in den verschiedenen Formen, wie *Bact. coli anaërogenes*, in kokkoiden Formen, als *Coli* mit Polfärbung etc.

Im Coecum und Rectum besteht die Flora hauptsächlich aus *Coli*, einzelnen *Proteus*-Arten, *Bacillus subtilis*, *mesentericus* und *megatherium*.

Bei sehr jungen Kälbern finden sich im ganzen Darmkanale fast nur gramnegative Stäbchen, Milchsäurestäbchen (sowohl Kurz-, als auch Langstäbchen) und einzelne peptonisierende Kurzstäbchen. Wenn

man noch den Milchfütterungsversuch am etwas älteren Kalbe vergleicht, so kann man hieraus deutlich ersehen, daß die Milch in hohem Grade zu einer vermehrten Entwicklung der Milchsäurestäbchen und gärungsfähigen Coli-Bakterien Anlaß gibt. Es ist sehr auffällig, daß das Vorhandensein reichlichen Kohlehydrats die Proteinstoffspaltung verhindert oder wenigstens bedeutend herabsetzt. Fütterungsversuche haben gezeigt, daß das *Bact. coli* nicht, wie Wüthrich und Freudenreich beobachtet zu haben glauben, häufiger bei der Winterfütterung als bei der Grasfütterung auftritt; vielmehr scheint das Gegenteil der Fall zu sein. Die verschiedenen beweglichen Formen der Bakterien sind anscheinend bei Milchfütterung noch lebhafter beweglich.

Zum eventuellen Nachweis von Paratyphusbacillen haben wir die verschiedenen, so häufig angewandten, farbigen Agarplatten benutzt. Anfangs wurde Conradi-Drigalski-Agar benutzt; trafen wir dann eine verdächtige Kolonie, so wurde sie sehr sorgfältig in Löfflers Malachitgrünagar, Endos Fuchsinagar, Rotbergers Neutralrotagar und Orceïnagar untersucht. Es sei noch bemerkt, daß wir immer Oldekops halbflüssiges Agar (0,3—0,5-proz.) benutzten, das sich vorzüglich zur Reduktion von Farbstoffen eignet. Die Isolierung von Typhus-, Paratyphus-, Coli-Bakterien haben wir nach W. Buchholz's vortrefflicher Arbeit vorgenommen. Es ist uns aber nie gelungen, Bakterien zu isolieren, von denen man sagen konnte, daß sie zur Paratyphusgruppe gehören; z. B. hat auch Eckert bei 16 ausgewachsenen, gesunden Ochsen nur in 1 Falle den Paratyphusbacillus gefunden. Uhlenhuth konnte in 8,4 Proz. der von ihm untersuchten gesunden Schweine Paratyphusbakterien finden. Titze und Weichsel fanden *Bac. paratyphi* bei einem gesunden Pferde und Trautmann fand ihn bei gesunden, wilden Ratten in den meisten Fällen, Kliemenks auch im Hundedarmkanal. Morgan hat beim gesunden Ochsen das Vorhandensein von Enteritisbakterien konstatieren können. So z. B. 4mal im Dickdarm des Ochsen, 1mal je im Dünn- und Dickdarm des Kalbes. Zweimal traf er den *Bacillus paratyphi* im Kälberdarm. Horn und Huber haben oft im Darmkanal gesunder Ochsen Bakterien gefunden, die bei oberflächlicher Betrachtung in vielen Eigenschaften dem *Bacillus paratyphi* B glichen. Eine Verwechslung ist nicht möglich, wenn man alle morphologischen, biologischen und serologischen Verhältnisse untersucht. Die Verfasser bezeichnen die isolierten Stämme als *Paracoli*-Stämme und rechnen sie zu dem elastischen Begriffe: *Bact. coli commune*; sie nehmen sehr bestimmt an, daß sich im Darmkanale gesunder Ochsen kaum echte Paratyphusbakterien finden. Auch Titze, Weichel, Aumann, Horn und Huber haben nie Paratyphusbakterien im Ochsendarm gefunden. Nur Eckert und Morgan geben an, solche gefunden zu haben. Es ist aber nicht wahrscheinlich, daß Eckerts Stamm Paratyphus B ist, weil E. nicht alle biologischen Untersuchungen angestellt hat. Nach Horn und Huber ist den serologischen Untersuchungen kein wirklicher Wert beizumessen.

Betreffs der Ubiquität der Paratyphus B-Bakterien schließen Horn und Huber sich darin König an, daß Paratyphusbacillen in großer Menge als nicht pathogene Keime vorkommen.

Lange Milchsäurestäbchen haben wir im Netzmagen immer finden können; sie produzierten aber, im Widerspruche zu den Angaben Wolffs immer reichliche Mengen Gas. Wolff bemerkt, daß die sporengen Körnchen, die man in ihnen antrifft, auf eine Verwandtschaft mit

den im Darne beobachteten unbeweglichen, asporogenen Buttersäurebakterien, *Bacterium esterificans* und *Bact. kefir*, hindeuten. Die gasentwickelnden Formen erinnern sehr an die *Coli aërogenes*-Gruppe. Infolge der Verwirrung innerhalb der Nomenklatur der Milchsäurebakterien ist es sehr wahrscheinlich, daß wir es hier mit Bakterien zu tun haben, die früher unter anderen Namen beschrieben worden sind.

Das *Bact. Güntheri* haben wir häufig isoliert und dürfen es daher zu den obligaten Darmbakterien rechnen, wie das auch Ankersmit getan hat, der als Herd der Günther-Stäbchen den Pansen betrachtet. Von resistenten Erdbakterien haben wir am häufigsten den *Bacillus subtilis* gefunden, den wir mit Hüttemann auch als obligat betrachten.

Bacillus mesentericus ruber, den wir in einem Falle isoliert haben, ist, soviel wir wissen, zuvor nicht im Darmkanale gefunden worden. Die Kartoffelkultur war so charakteristisch und auffällig, daß eine Verwechselung mit anderen ausgeschlossen erscheint (Th. Gruber). Auch ein großer Teil der verschiedenen sporenbildenden Bakterien mit lederartigem Wachstum scheint nicht genauer als Bewohner des Darmkanals beschrieben zu sein. Die allgemein bekannten und gut beschriebenen *Bacillus mesentericus*-, *megatherium*- und *mycoides*-Formen haben wir oft zu beobachten Gelegenheit gehabt. Wie schon erwähnt, haben wir aber nie an einer anderen Stelle so hübsche *Mycoides* angetroffen.

Einzelne Male haben wir *Proteus*-Arten gefunden, aber nur verhältnismäßig selten, und zwar beim ausgewachsenen Ochsen am häufigsten und besonders im untersten Abschnitt des Darmkanals.

Den *Actinomyces* haben wir mit großem Interesse durch den ganzen Darmkanal abwärts verfolgt. Hüttemann ist der einzige, der einen *Actinomyces* im Darmkanal des Ochsen gefunden hatte und bemerkt bei dieser Gelegenheit, daß der betreffende Ochse Kiefer- und Zungenaktinomykose hatte. Wir haben den *Actinomyces albus* so oft gefunden, daß wir auch ihn zu den obligaten Darmbakterien rechnen müssen. Er findet sich wohl am häufigsten in den oberen Abschnitten des Darmkanals. Die verschiedenen gefundenen *Actinomyces*-Formen verhalten sich im großen und ganzen gleich; sie waren alle für Mäuse, Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen avirulent. In einem Fall fanden wir den *Actinomyces chromogenes* Gasperini. Die isolierten *Actinomyces* wuchsen auf den gewöhnlichen Nährsubstraten nicht gleich, und zwar wuchsen sie durchweg am besten bei Stubentemperatur, langsamer bei Körpertemperatur. Dies scheint mit den Angaben einiger Autoren in Widerspruch zu stehen, so z. B. mit denen von R. Scheel. Als charakteristisch für einige der isolierten *Actinomyces* sei noch erwähnt, daß sie einen sehr durchdringenden, an Erde erinnernden Geruch besaßen, besonders der *Actinomyces albus* mit kalkartigem Luftmycel. Dieser Geruch hat denn auch Anlaß gegeben zu dem Namen *Actinomyces odorifer*. Die verschiedenen *Actinomyces*, die bisher isoliert worden sind (ca. 50 Stück) sind für Tiere nicht besonders virulent und es ist noch sehr die Frage, ob die *Actinomyces*, welche sich in der Natur finden, wirklich die Kiefer- und Zungenaktinomykose beim Vieh verursachen können. Die Aktinomyceten sind eine sehr schlecht definierte Gruppe von Bakterien, deren Morphologie nicht so gut bekannt ist, wie die so vieler anderen Bakterienformen. Bald treten sie als kürzere Stäbchen oder Körnchen, bald

sehr weit verzweigt auf, bald auch zeigen sie eine ausgeprägte Kolbenbildung und sind überhaupt von ihrer Umgebung sehr abhängig. R. Scheel hat aus der Kieferaktinomykose des Viehes einige kleine, diplokokkenartige, pleomorphe Stäbchen isoliert, die in flüssigen Nährmedien zu längeren Fäden ohne Verzweigung auswuchsen. Bezüglich der Pathogenität dieser Stäbchen sei erwähnt, daß sie nur bei Kaninchen einen oder mehrere kleine Abszesse hervorgerufen haben. Höchst wahrscheinlich wird die Aktinomykose beim Vieh überhaupt nicht von einer einzelnen Bakterie hervorgerufen, sondern sie ist im Gegenteil polybakteriell. Am besten scheint der *Actinomyces* in Symbiose mit verschiedenen anderen Bakterien zu gedeihen (Lignières, Spitz, Bongert und Nocard).

Von Mikrokokken und Streptokokken haben wir nicht ganz wenige isoliert; der größte Teil von ihnen ist bekannt und schon beschrieben; einige haben keine besonders charakteristischen biochemischen Eigenschaften. Wir haben hauptsächlich in den obersten Abschnitten des Verdauungskanal Mikrokoken gefunden; der Pansen und die obersten Teile des Dünndarmes waren besonders reich daran. Im Gegensatz zu Gröning, der weder mikroskopisch noch kulturell Streptokokken im Dünndarm nachweisen konnte, haben wir den größten Teil der beschriebenen Streptokokken gerade in diesem gefunden. Mikroskopisch haben wir jedoch oft Streptokokken und Staphylokokken im Colon und Rectum gesehen, doch ist es schwierig, derselben habhaft zu werden wegen ungemein schnellen Wachstums anderer Bakterien. Besonders in den Wintermonaten fanden wir Streptokokken, die bestätigten, daß die Winterfütterung die Veranlassung zum Auftreten zahlreicher Streptokokken war. Keiner der isolierten Kokken war für Mäuse pathogen, was auch nicht bei den von Gröning aus dem Ochsendarm isolierten Streptokokken der Fall war. Wir haben übrigens auch aus dem Pansen einige Diplokokken isoliert.

Vergeblich haben wir versucht, die strengen Anaëroben zu isolieren; auch Neubauer hat übrigens solche nicht finden können; er sucht die Ursache, daß sich im Darmkanal weder Tetanus, noch der *Bacillus oedematis maligni* finden, dadurch zu erklären, daß sie so schnell durch die bakteriziden Stoffe, die von den Gewebselementen sezerniert werden, vernichtet werden.

Wir wollen nun noch eine Uebersicht über die von uns gefundenen Bakterien geben; bei denen, welche wir zu den obligaten Darmbakterien rechnen, haben wir (oblig.) hinzugefügt.

Bekannte Formen.

Bacterium coli commune (oblig.).
 Kokkoide Coli-Formen (oblig.).
Bacterium paracoli anindolicum.
Bacterium coli anaërogenes (oblig.).
Bacterium lactis aërogenes (oblig.).
Bacterium Güntheri (oblig.).
 Lange Milchsäurestäbchen (oblig.).
Bacillus fluorescens liquefaciens.
Bacillus tumescens Zopf.
Bacillus mycoides (oblig.).
Bacillus megatherium (oblig.).
Bacillus subtilis (oblig.).
Bacillus mesentericus vulgatus (oblig.).
Bacillus mesentericus fuscus Flügge.
Bacillus mesentericus ruber.
Bacillus proteus vulgaris.

Micrococcus cyclops Henrici.
Micrococcus albocereus Migula.
Micrococcus citrinus Unna.
Micrococcus lacticus Marpm.
Micrococcus candicans Flügge (oblig.).
Micrococcus saccatus Migula.
Micrococcus pyogenes albus (avirulent) (oblig.).
Micrococcus vitellus Mig.
Streptococcus albicans.
Actinomyces albus (aërob) (oblig.).
Actinomyces albus (fakultativ anaërob) (oblig.).
Actinomyces chromogenes Gasper.

Unbekannte Formen.

Stäbchenformen: 6, 7, 18.
 Lebhaft bewegliche Stäbchenformen: 26.
 Sporenbildende Bakterien: 5, 11, 27 (oblig.), 36.
 Fakultative Anaëroben: 13, 14.
 Mikrokokken: 21.
 Staphylokokken: 19 (oblig.), 25, 29, 30, 31, 32, 33, 34.
 Streptokokken: 23, 24 (oblig.).
Streptococcus elasticus.
Vibrio fluorescens.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich Herrn Prof. Dr. C. J. Salomonsen, Chef des Instituts der Universität für allgemeine Pathologie, und dem Abteilungsvorsteher, Herrn Dr. med. Vilh. Jensen meinen besten Dank abstatten für die Hilfsmittel, die sie mir bei der Ausführung meiner Arbeit zur Verfügung gestellt haben.

Das Bakterienmaterial.

Bakterie No. 1.

Gelatineplatte: 2 mm große, runde, in der Tiefe liegende Kolonie, die aus feinen Fäden zu bestehen scheint, die nach dem Zentrum zu mehr gefiltert sind.

Gelatinestich: Gedeiht gut in der Tiefe, wo sie als kleine, watteflockenartige Knötchen wächst, von welchen feine Härchen nach allen Seiten hin ausgehen; verflüssigt die Gelatine.

Schrägagar: Kleine, gelblichweiße Kolonien, die sich hoch über die Oberfläche hinaus wölben. Oberfläche nicht ganz glatt, da sie einige Falten bildet, die alle vom Zentrum ausgehen. Die Kolonien sind sehr hart und zähe, so daß es schwierig ist, mit der Platinnadel hineinzustechen. Das Kondensationswasser ist klar, der Geruch erinnert an feuchten Kellergeruch.

Agarstich: Oberfläche ist wie beim Schrägagar, sonst besonders gutes aërobes Wachstum. Nach längerem Stehen bildet sich ein rosa Schimmer über der Kolonienkultur.

Laktosebouillon: Keine Luftentwicklung.

Dextrosebouillon: Bouillon klar. Am Boden finden sich einige watteartige Klümpchen. Reaktion in Dextrosebouillon schwach sauer, in Laktosebouillon neutral.

Milch koaguliert nicht.

Kartoffel: Sehr große, weißliche, mit verkalktem Aussehen.

Indolreaktion negativ.

Hängender Tropfen: Lange, unbewegliche, verwickelte und verzweigte Fäden.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 2.

Agarplatte: Dicke, gelblichweiße Kolonie; Rand fein wellenförmig. Der zentrale Teil der Kolonie ist klarer und durchsichtiger, während die Peripherie weißer und undurchsichtiger ist. Sonst ist die Kolonie homogen mit scharf konturiertem Rand.

Agarstich: Gutes Bandwachstum in der Tiefe; an der Oberfläche eine große, gelblichweiße, blanke, unregelmäßige Platte.

Gelatineplatte: Große, weißlichgelbe Kolonie, verhältnismäßig scharfrandig und von einer großen Peptonisierungszone umgeben.

Gelatinestich: Recht gutes Fadenwachstum in der Tiefe; verflüssigt die Gelatine trichterförmig. Am Boden des Trichters weißliches Sediment.

Hängender Tropfen: Unbewegliche Staphylokokken.

Färbung nach Gram positiv.

Pathogenität: Für Mäuse nicht pathogen.

Bakterie No. 3.

Agarplatte: Großes Plattenwachstum mit dichterem Zentrum, von dem feine spinnwebartige Fäden ausgehen. Farbe grauweiß.

Agarstich: Ganze Oberfläche mattweiß. Längs des Stichkanals liegen isolierte Flocken, von denen feine Fäden ausgehen.

Schrägagar: Wachstum auf der ganzen Fläche; in der Mitte am dicksten, von wo feine, haarähnliche Verzweigungen ausgehen.

Gelatinestich: Dünnes Wachstum in der Tiefe längs des Stichkanals; von diesem strahlt ein Nebel feiner Härchen aus. Die Haare lassen sich mit dem bloßen Auge nicht recht sehen, die ganze Gelatinesäule aber ist von einem schwachen Nebel durchdrungen. Später schalenförmige Verflüssigung der Gelatine.

Dextrosebouillon: Keine Vergärung. Samtartige Flocken am Boden.

Laktosebouillon: Keine Vergärung. Samtartige Flocken am Boden. Im übrigen Bouillon klar.

Indolreaktion nach Verlauf von 7 Tagen negativ.

Hängender Tropfen: Perlenschnurartige Fäden mit stark lichtbrechenden Sporen in der Mitte des an den Enden scharf abgeschnittenen Stäbchens. Gleicht dem *Bacillus anthracis*.

Färbung nach Gram positiv. Die Sporen bleiben klar und man sieht sie dann äquatorial in der Bakterie liegen.

Bakterie No. 4.

Gelatineplatte: Kleine, runde Oberflächenkolonie, gelblichweiß mit anscheinend feinen Haaren in der Peripherie.

Gelatinestich: Beginnt die Gelatine schalenförmig zu peptonisieren.

Agarstich: Nur aerobes Wachstum, das aus einem sehr dünnen Belag besteht, ungefähr von der Farbe des Agars.

Dextroseagar: Kein Wachstum.

Schrägagar: Wächst wie an der Agaroberfläche.

Dextrosebouillon: Kein Gas. Die Bouillon klar.

Laktosebouillon: Kein Gas. Die Bouillon klar.

Kartoffel: Weißliches, dünnes Wachstum.

Indolreaktion negativ.

Hängender Tropfen: Große, lange Stäbchen zu längeren Fäden zusammengekettet, die Sporen sitzen äquatorial.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 5.

Gelatineplatte: Kleine, runde Tiefenkolonie. Das Zentrum scheint dichter zu sein als der übrige Teil der Kolonie. Die hellere Zone in der Peripherie scheint schwach fibrillär zu sein.

Gelatinestich: Dünnes, bandförmiges Wachstum in der Tiefe. Peptonisiert zylindrisch. Ueber der zerfließenden Gelatine, die wolkig ist, liegt ein fettartiges, weißliches Häutchen.

Agarstich: Dünnes, schlechtes Wachstum in der Tiefe; dünner, matter Belag auf der ganzen Fläche.

Dextrosebouillon: Keine Luftentwicklung.

Laktosebouillon: Reaktion sauer; ein dickes Häutchen bedeckt die Oberfläche. In der Dextrosebouillon findet sich am Boden ein wolkiges Sediment.

Milch koaguliert außerordentlich langsam. Reaktion schwach sauer.

Indolreaktion negativ.

Hängender Tropfen: Sehr dünnes und schlankes Stäbchen. Sporenbildend.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 6.

Gelatineplatte: Kleine, runde, regelmäßige, scharf konturierte Oberflächenkolonie. Das Zentrum scheint dunkler zu sein als die periphere Zone.

Gelatinestich: Dünnes Tiefenwachstum mit weißlicher Platte, die die Gelatine langsam verflüssigt. Die peptonisierte Gelatine schleimig.

Agarstich: Dünnes Fadenwachstum in der Tiefe und eine kleine, weißliche, blanke, unregelmäßige Platte auf der Oberfläche.

Laktosebouillon: Weder Gas noch Sediment.

Dextrosebouillon: Weder Gas noch Sediment.

Schrägagar: Oberflächenwachstum wie auf gewöhnlichem Agar. Kondensationswasser klar.

Indolreaktion negativ.

Hängender Tropfen: Kleine, dünne, bewegliche Stäbchen, die 0,8—2 μ lang und 0,3—0,5 μ breit sind. Die Enden schwach zugespitzt.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 7.

Gelatineplatte: 2 mm große, weißliche Kolonie, die in der Tiefe liegt. Schwammiges Aussehen. Die ganze Kante ist fein gekräuselt.

Gelatinestich: Kleines, bandförmiges Wachstum mit einer kleinen, weißlich-grauen Plattenausbreitung an der Oberfläche. Peptonisiert sehr langsam und macht die Gelatine schleimig.

Schrägagar: Dicker, weißlicher, verkleisterter, blanker Belag auf der Fläche. Rand schwach wellenförmig; Kondensationswasser klar.

Kartoffel: Schmutziger, graubräunlicher Belag.

Laktosebouillon: Keine Gasentwicklung.

Dextrosebouillon: Schwach wolkiges Sediment.

Indolreaktion negativ.

Hängender Tropfen: Ziemlich großes, gut geformtes Stäbchen, 1 μ breit und 1,8–3,5 μ lang. Oft zu kürzeren Fäden zusammengekettet. Endchen schwach abgerundet. Keine Beweglichkeit.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 8.

Gelatineplatte: Kleine, weißliche, scharfrandige Oberflächenkolonie. Homogen.

Gelatinestich: Dünnes, bandförmiges, körniges Wachstum längs des Stichkanals. Kleine, weißliche, unregelmäßige Klümpchen an der Oberfläche. Peptonisiert nicht; zeigt eine außerordentliche Elastizität und Kohäsionskraft.

Kartoffel: Kein Wachstum.

Dextrosebouillon: Keine Gasbildung; sehr geringes Wachstum.

Laktosebouillon: Keine Gasbildung; sehr geringes Wachstum.

Agarstich: Dünnes Wachstum im Stichkanal; im übrigen wie an der Gelatineoberfläche.

Hängender Tropfen: Unbewegliche Streptokokken. Ketten sehr lang und schnurgerade. Kokken sehr regelmäßig und gleich groß. Die Ketten können sich von dem einen Ende des Präparats nach dem anderen erstrecken.

Färbung nach Gram: Färbt sich sehr schlecht, ist aber trotzdem als zu den grampositiven gehörig zu betrachten.

Pathogenität: Für Mäuse nicht pathogen.

Bakterie No. 9.

Agarplatte: Homogene Oberflächenkolonie. Farbe weißlich und glänzend. Rand scharf.

Agarstich: Gutes Wachstum längs des ganzen Stiches mit einer weißen, rahmartigen Plattenausbreitung auf der Oberfläche.

Gelatinestich: Macht die Gelatine hübsch trichterförmig flüssig. Am Boden des Trichters Klumpen von Bakterienkolonien. Gleicht einem Netze mit Spinneneiern.

Dextroseagar: Rahmartiges Wachstum wie auf der Agarplatte.

Schrägagar: Längs des Risses dickes, rahmartiges Wachstum, das vom unbewachsenen Agar scharf umschrieben ist.

Kartoffel: Weißlicher Belag.

Hängender Tropfen: Unbewegliche Mikrokokken in kleineren Häufchen oder je 2 und 2 oder 4 und 4, ca. 1,2 μ im Durchmesser.

Färbung nach Gram positiv.

Pathogenität: Für Mäuse nicht pathogen.

Bakterie No. 10.

Agarplatte: Glatte, gelbliche, scharfrandige Kolonie.

Agarstich: Dünnes Tiefenwachstum mit einer graulichweißen Platte an der Oberfläche.

Schrägagar: Graulichweißer, dicker Belag. Ränder wellenförmig.

Gelatinestich: Geringes Tiefenwachstum mit rötlichgrauer, unregelmäßiger Plattenausbreitung an der Oberfläche. Peptonisiert nicht.

Dextrosebouillon: Keine Gasbildung. Fadenartige Flocken am Boden des Glases.

Laktosebouillon: Ebenso.

Indolreaktion nach 7 Tagen negativ.

Milch koaguliert nicht.

Hängender Tropfen: Unbewegliche Kokken in kleineren Klümpchen. Traubenform nicht selten.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 11.

Agarplatte: Eine an der Oberfläche liegende, unregelmäßige, weißliche Kolonie; Rand scharf; Zentrum dichter als die übrige Kolonie, die ganz homogen ist.

Schrägagar: Dicker, weißlicher, blanker Belag. Rand wellenförmig.
Gelatinestich: Fadenförmiges Wachstum längs des ganzen Stichkanals und eine unregelmäßige, matte, weißliche, sehr schleimige Platte auf der Oberfläche; Peptonisierung geht langsam vor sich.

Kartoffel: Dickes, trockenes, grauliches Wachstum mit tautropfenartigen Perlen.

Dextrosebouillon: Keine Gasbildung; geringe Sedimentbildung.

Laktosebildung: Ebenso.

Hängender Tropfen: Unbewegliche, dicke, sporentragende Stäbchen. Außer den polaren Sporen sieht man eine ganze Reihe sporogener Körnchen, die längs der einen Seite der Bakterie sitzen.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 12.

Gelatineplatte: Eine 1 mm große, blanke Oberflächenkolonie. Die Farbe schwach gelblich. Mikroskopisch gesehen, ist homogen.

Gelatinestich: verflüssigt die Gelatine trichterförmig mit flockigem Sediment am Boden des Trichters; flüssige Gelatine ist schwach unklar.

Schrägagar: Dicker, weißlicher Belag; Rand wellenförmig.

Kartoffel: Trockenes, weißliches Wachstum, das später kalkartig wird.

Laktosebouillon: Keine Gasentwicklung. Wolkiger Niederschlag.

Dextrosebouillon: Ebenso.

Milch koaguliert nicht.

Hängender Tropfen: Große, fadenartige Bakterien ohne Beweglichkeit.

Färbung nach Gram positiv. Gefärbt, präsentieren sie sich als große, kettenbildende Stäbchen, die von einer Geleekapsel umgeben zu sein scheinen.

Bakterie No. 13.

Gelatineplatte: Weißliche, durchsichtige Kolonie, schwach gelblich, scheint aus Fäden zu bestehen, die so verwickelt liegen, daß das Ganze gewissermaßen einer Watteflocke gleicht. Zentrum verhältnismäßig dicht, Peripherie loser.

Gelatinestich: Gutes Wachstum längs des ganzen Stichkanals. Keine Platte. Vom Stichkanal verzweigte Ausläufer nach den Seiten, die an Größe abnehmen.

Agarstich: Gutes Wachstum längs des ganzen Stiches. An der Oberfläche kleine Flecken, die aus außerordentlich zarten und feinen Belägen von der Farbe des Agars bestehen; sie sind deswegen recht schwierig zu unterscheiden.

Dextroseagar: Kein Wachstum.

Schrägagar zeigt sozusagen kein Oberflächenwachstum; längs des Risses aber liegen überall ca. 3 mm von der Oberfläche kleine, watteflockenartige Bildungen.

Kartoffel: Fast unsichtbares Wachstum.

Hängender Tropfen: Langes, schlankes Stäbchen ohne Beweglichkeit. Sie scheinen eine polare Spore zu haben.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 14.

Gelatineplatte: Kleine, in der Tiefe liegende, fadenartige Kolonie, sehr unregelmäßig. Protuberanzartige Ausläufer. Farbe schwach gelblich.

Gelatinestich: Kleines, dünnes Fadenwachstum im Stichkanal; an der Oberfläche eine sehr dünne Platte.

Schrägagar: Sehr dünnes und fast unsichtbares Wachstum an der Oberfläche.

Agarstich: Kräftiges Wachstum längs des ganzen Impfstiches. Keine Platte.

Dextroseagar: Kein Wachstum.

Kartoffel: Dünner, weißlicher Belag. Feuchtes Aussehen.

Hängender Tropfen: Kleines, schlankes Stäbchen ohne Beweglichkeit.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 15.

Agarplatte: Alle Kolonien wachsen in der Tiefe und sind für den *Actinomyces albus* typisch. Rand mit feinen Haaren dicht besetzt.

Agarstich: Wächst gut an der Oberfläche, Kolonien wölben sich gewöhnlich über diese hinaus und bilden eine lederartige, weißlichgelbe Platte. In der Tiefe, ca. 2 cm von der Oberfläche, reichliches und gutes Wachstum. Dieses folgt nicht ununterbrochen dem ganzen Impfstich, sondern bildet vielmehr isolierte Knötchen, die ganz mit feinen Haaren besetzt sind.

Gelatinestich: Wächst sehr langsam und macht die Gelatine flüssig. Diese ist ganz wasserhell, und in ihr schwimmen grauliche, samtartige Platten.

Hängender Tropfen: Unbeweglich, die weitverzweigten Fäden aber sind sehr häufig an den Enden spiralförmig gewunden und zeigen dadurch ein von den anderen isolierten *Actinomyces* abweichendes Aussehen.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 16.

Agarplatte: Ca. 4 mm große, regelmäßige runde Oberflächenkolonie; sie ist scharf konturiert und wölbt sich ziemlich über die Oberfläche empor; Farbe graugelb. Mikroskopisch ist sie verhältnismäßig homogen, jedoch kann man abwechselnd dunklere und hellere Zonen unterscheiden, die konzentrisch geordnet sind. Im Zentrum ist die Kolonie etwas verdichtet und sieht fast wie ein aufgerolltes Knäuel Garn aus.

Agarstich: In der Tiefe geringes, fadenförmiges, an der Oberfläche halb durchsichtiges Wachstum.

Gelatinestich: Dünnes, fadenförmiges Wachstum in der Tiefe. Die Gelatine, die peptonisiert, schalenförmig ist, hat ein weißliches, dünnes Häutchen an der Oberfläche; außerdem ist sie nicht klar und wolkig.

Kartoffel: Hübscher, typischer Mesentericus-Belag.

Milch koaguliert.

Dextrosebouillon: Keine Gasentwicklung; dünnes Häutchen; schwache Sedimentbildung.

Laktosebouillon: Ebenso.

Hängender Tropfen: Lange, fadenförmige Stäbchen mit lebhafter, schneller Bewegung, die an die der Vibrionen erinnert. Sporen äquatorial.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 17.

Agarplatte: Große, unregelmäßige, homogene Kolonien mit zungenförmigen Ausläufern am Rande. Farbe weißlich und die Konsistenz ziemlich trocken und elastisch.

Agarstich: In der Tiefe gutes Wachstum mit verzweigten Ausläufern vom Hauptstamme aus. An der Oberfläche ein faltiger, trockener, fast lederartiger, gelblich-weißer Belag.

Gelatinestich: Sehr geringes Wachstum in der Tiefe. Anfangs biegt sich die Gelatine abwärts wie beim Eintrocknen, später fließt sie schalenförmig aus und entspricht den Choleragelatinestichkulturen.

Milch koaguliert nach Verlauf von 2 Tagen.

Dextrosebouillon: Keine Gasentwicklung. Großes, dickes Häutchen an der Oberfläche.

Laktosebouillon: Ebenso. Schwache Sedimentbildung.

Hängender Tropfen: Langes, dünnes Stäbchen mit außerordentlich lebhafter Bewegung. Endogene Sporen. Die Stäbchen sind ziemlich scharf und an den Enden abgeschnitten.

Färbung nach Gram positiv.

Pathogenität: Für Mäuse nicht pathogen.

Bakterie No. 18.

Gelatineplatte: 3 mm große, scharf konturierte, homogene, blanke, gelblich-rote Kolonie, die die Gelatine nicht verflüssigt.

Gelatinestich: Wächst vorzugsweise aerob; macht die Gelatine nicht flüssig, sondern bildet eine trichterförmige Einsenkung und bekleidet diese mit einem rötlichen Belage.

Milch koaguliert.

Laktosebouillon: Keine Gasentwicklung; an der Oberfläche ein schwaches Häutchen; Sedimentbildung.

Dextrosebouillon: Ebenso.

Hängender Tropfen: Ein kurzes, lebhaftes, bewegliches Stäbchen, das anscheinend keine Sporen bildet.

Färbung nach Gram positiv.

Pathogenität: Für Mäuse nicht pathogen.

Bakterie No. 19.

Gelatineplatte: Eine Kolonie, ca. 1 cm im Diameter, die die Gelatine schalenförmig flüssig macht. Auf der flüssigen Gelatine bildet sich ein dickes Häutchen. Farbe gelblichrot.

Gelatinestich: Schlechtes Wachstum in der Tiefe; macht die Gelatine trichterförmig flüssig, wie der *Staphylococcus pyogenes aureus*. Am Boden des Trichters finden sich große, grobe Flocken; das Ganze gleicht einem Spinnweb mit Eiern.

Agarstich: Gutes, bandförmiges Wachstum in der Tiefe. Große, blanke, rötliche Platte an der Oberfläche.

Milch koaguliert nicht.

Laktosebouillon: Keine Gasentwicklung; schwache Häutchenbildung. Bouillon nicht klar; reichlich Sediment.

Dextrosebouillon: Ebenso.

Hängender Tropfen: Typischer *Staphylococcus* und einzelne, 2—3-gliedrige Ketten.

Färbung nach Gram positiv.

Pathogenität: Nicht pathogen.

Bakterie No. 20.

Agarplatte: Eine 2 mm große, scharf konturierte, sehr dünne Tiefenkolonie, die durchscheinend ist und leicht opalisiert.

Agarstich: Gutes, fadenförmiges Wachstum, nimmt nach unten ab. Keine Platte an der Oberfläche.

Gelatinestich: Sehr dünn und fadenförmig in der Tiefe, mit einer großen, fast durchsichtigen Plattenausbreitung an der Oberfläche. Macht die Gelatine nicht flüssig.

Milch koaguliert sehr schnell und intensiv.

Laktosebouillon: Vergärt diese unter Gasentwicklung.

Dextrosebouillon: Ebenso.

Indolreaktion negativ.

Hängender Tropfen: Großes, langes, schlankes, unbewegliches Stäbchen mit anscheinend einer Menge sporogener Körnchen.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 21.

Agarplatte: Eine 0,2 cm große, sich über die Oberfläche wölbende, weißliche, blanke, scharf konturierte Kolonie, ohne jegliche Struktur.

Agarstich: Gutes, bandförmiges Wachstum in der Tiefe mit einer regelmäßigen, weißlichgelben Platte mit einer Andeutung von Ringen, die konzentrisch geordnet sind, in Form von abwechselnd helleren und dunkleren Zonen. Sehr schleimig.

Gelatinestich: Dünnes Fadenwachstum in der Tiefe, nach unten stark abnehmend. Peptonisiert Gelatine langsam. Oben auf der flüssigen Gelatine läßt sich ein weißliches, durchsichtiges Häutchen mit einer gelblich verdichteten Partie im Zentrum wahrnehmen.

Milch koaguliert nicht.

Hängender Tropfen: Kleine, unbewegliche Mikrokokken, die sehr oft zu je 2 und 2 zusammenhängen.

Färbung nach Gram positiv. Die Kokken liegen einzeln und scheinen eine ausgeprägte Schleimkapsel um sich zu haben.

Bakterie No. 22.

Agarplatte: Eine 0,5 cm große, fein granulierte, weißliche Kolonie, an der Oberfläche gewölbt; Rand scharf.

Agarstich: Gutes, bandförmiges Wachstum in der Tiefe mit einer weißlichen, scharfrandigen, porzellanartigen Platte.

Gelatinestich: Gutes Wachstum längs der ganzen Gelatinesäule; nur eine kleine, weiße Platte an der Oberfläche. Peptonisiert nicht.

Indolreaktion negativ.

Hängender Tropfen: Unbewegliche, kurzkettenförmige Streptokokken.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 23.

Gelatineplatte: 0,5 cm große, scharfrandige, schwach gelbliche Kolonie. Mikroskopisch ist sie homogen. Peptonisiert nicht.

Gelatinestich: Dünnes, fadenförmiges Wachstum in der Tiefe mit kleiner, weißlichgelber, trockener, staubiger Platte. Peptonisiert nicht.

Indolreaktion negativ.

Kartoffel: Trockenes, gelbliches Wachstum.

Bouillon ist klar, am Boden aber findet sich ein spärliches, wolkiges Sediment.

Hängender Tropfen: Lange, unbewegliche Ketten; die Mikrokokken sind einigermassen gleich groß.

Färbung nach Gram positiv.

Pathogenität: Für Mäuse nicht pathogen.

Bakterie No. 24.

Gelatineplatte: Eine 0,2 cm große, sternförmige Kolonie. Macht die Gelatine flüssig; diese ist klar, mit einem weißlichen Sediment am Boden.

Gelatinestich: Dünnes, fadenförmiges Wachstum in der Tiefe; verflüssigt die Gelatine mit einem weißen, klumpigen Niederschlag in der Spitze des Trichters.

Agarstich: Geringes Wachstum in der Tiefe. An der Oberfläche eine verkleisterte, weißliche, unregelmäßige Platte.

Hängender Tropfen: Unbewegliche, kurzkettenförmige Streptokokken von 2—10 Gliedern.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 25.

Agarplatte: Eine 0,5 cm große, regelmäßig runde Kolonie; wölbt sich über die Oberfläche, ist blank und weißlich und gleicht nahezu einem Paraffintropfen. Mikroskopisch gesehen, ist sie homogen und ziemlich lichtbrechend.

Agarstich: Gutes, bandförmiges Wachstum in der Tiefe mit einer weißen, scharfrandigen, runden, spiegelnden, blanken Platte an der Oberfläche.

Gelatinestich: Schwaches Bandwachstum in der Tiefe; verflüssigt die Gelatine hübsch schalenförmig. Die flüssige Gelatine wolkig und unklar. Kein Häutchen an der Oberfläche.

Dextrosebouillon: Keine Gasentwicklung. Reichliches Sediment.

Laktosebouillon: Ebenso.

Milch koaguliert nicht.

Hängender Tropfen: Unbewegliche, mittelgroße Mikrokokken, die traubenförmig angeordnet liegen. Sie scheinen von einer Kapsel umgeben zu sein.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 26.

Agarplatte: Eine 0,2 cm große, in der Tiefe liegende Kolonie, unregelmäßig von der fadenförmigen Substanz zusammengefiltert; ziemlich lichtbrechend.

Agarstich: Wächst sozusagen nicht in der Tiefe. An der Oberfläche eine völlig homogene, grauweiße, blanke Platte mit scharfen Rändern.

Gelatinestich: Kein Tiefenwachstum; verflüssigt die Gelatine zylindrisch. Die peptonisierte Gelatine ist grau und unklar. Kein Häutchen an der Oberfläche.

Milch koaguliert nicht, sondern wird schleimig.

Hängender Tropfen: Dünnes, schlankes Stäbchen mit außerordentlich lebhafter Vibrionenbewegung.

Färbung nach Gram positiv.

Bakterie No. 27.

Agarplatte: Klein, 0,2 cm groß; in der Tiefe liegende Kolonie. Mikroskopisch gesehen, ist sie matt und homogen; der Rand scharf umschrieben.

Agarstich: Kein Wachstum in der Tiefe; an der Oberfläche ein Mesentericusartiges Wachstum mit mattem und faltigem Häutchen.

Schrägar: Dickes, gelbliches, lederartiges, faltiges Wachstum an der ganzen Agaroberfläche.

Gelatinestich: Sehr geringes Fadenwachstum in der Tiefe; verflüssigt die Gelatine zylindrisch; die flüssige Gelatine nicht klar, sondern trübe. An der Oberfläche ein dickes, gelbliches, mattes, staubiges Häutchen, mit starken Falten.

Gelatineplatte: Kolonie schalenförmig; mikroskopisch gesehen, ist sie in der Peripherie heller und nach dem Zentrum zu dunkler und dichter, wo sie fein granuliert ist.

Kartoffel: Dickes, tautropfenartiges Wachstum.

Indolreaktion negativ.

Hängender Tropfen: Ziemlich schlankes Stäbchen mit äquatorialen Sporen.

Färbung nach Gram positiv; viele sporogene Körnchen.

Bakterie No. 28.

Agarplatte: Eine scharfrandige, weißlichgelbe und schwach opalisierende Oberflächenkolonie von der Form eines Blattes. Das Zentrum dichter und gelber. Sonst ist die Kolonie homogen und rahmartig.

Schrägar: Dicke, lange, lebhaftes Wachstumsausbreitung. Nicht opalisierend.

Gelatinestich: Dünnes Fadenwachstum in der Tiefe; macht anfangs die Gelatine schalenförmig flüssig, später wird die Peptonisierungszone zylindrisch.

Indolreaktion negativ.

H₂S-Reaktion negativ.

Hängender Tropfen: Kleines, dünnes Stäbchen; oft mehrere an längeren Fäden zusammengeknüpft. Sehr lebhafte Beweglichkeit. Sporenbildung.

Färbung nach Gram positiv. Kleines, kurzes, dünnes, diphtherieartiges Stäbchen mit Polarsporen.

Bakterie No. 29.

Agarplatte: Eine 1 mm große, scharfrandige und unregelmäßig runde Kolonie, die sich über die Oberfläche wölbt und mikroskopisch homogen ist.

Schrägagar: Dicker, weißlicher, blanker Belag auf der ganzen Fläche. Das Kondensationswasser klar.

Gelatinestich: Dünnes, fadenförmiges Wachstum in der Tiefe. An der Oberfläche eine sehr geringe Platte. Peptonisiert nicht.

Milch koaguliert nicht.

Indolreaktion negativ.

Laktosebouillon: Keine Gasentwicklung; kleines, wolkiges Sediment am Boden.

Dextrosebouillon: Ebenso.

Hängender Tropfen: Unbewegliche Staphylokokken.

Färbung nach Gram positiv.

Pathogenität: Für Mäuse nicht pathogen.

Bakterie No. 30.

Agarplatte: Eine 4 mm große, regelmäßig runde, sich über die Oberfläche wölbende Kolonie; sie ist weiß, blank und nicht opalisierend. Mikroskopisch gesehen, ist sie nahezu homogen mit dichterem Zentrum.

Schrägagar: Dickes, oberflächliches, rahmartiges Wachstum; Rand fein wellenförmig und zackig.

Gelatinestich: Dünnes Fadenwachstum in der Tiefe; verflüssigt die Gelatine trichterförmig; dichte Bakterienmassen am Boden des Trichters; die übrige Gelatine fast klar.

Milch koaguliert nicht.

Indolreaktion negativ.

Hängender Tropfen: Unbewegliche Staphylokokken.

Färbung nach Gram positiv.

Pathogenität: Für Mäuse nicht pathogen.

Bakterie No. 31.

Agarplatte: Scharfrandige, dicke, weiße und verkleisterte, homogene Oberflächenkolonie.

Schrägagar: Eigentümlicher, weißlicher, dicker, schmieriger Belag; Rand zackig und gleicht gewissermaßen einem Baum mit Blättern mit einem rosa Schimmer.

Gelatinestich: Dünnes Fadenwachstum in der Tiefe; verflüssigt die Gelatine trichterförmig mit weißlichen Flocken am Boden des Trichters.

Milch koaguliert nicht.

Indolreaktion negativ.

Hängender Tropfen: Unbewegliche Staphylokokken.

Färbung nach Gram positiv.

Pathogenität: Für Mäuse nicht pathogen.

Bakterie No. 32.

Agarplatte: Kleine, zitronengelbe, sich über die Oberfläche wölbende, blanke Kolonie von rahmartiger Konsistenz; homogen und scharfrandig.

Schrägagar: Gutes, dickes, oberflächliches Wachstum auf der ganzen Fläche. Die Oberfläche ist etwas uneben und die Kante fein gewellt. Später wird die Kolonie, die anfangs blank ist, etwas trocken. Farbe stark zitronengelb.

Gelatinestich: Dünnes, schlechtes Tiefenwachstum; Gelatine zylindrisch verflüssigt, klar und gelblich; am Uebergang zwischen der flüssigen und festen Gelatine reichlich gelbes Sediment.

Milch koaguliert nicht.

Indolreaktion negativ.

Hängender Tropfen: Unbewegliche Mikrokokken in kleineren Klümpchen; verhältnismäßig selten in kürzeren Ketten. Diplococcus.

Färbung nach Gram positiv.

Pathogenität: Für Mäuse nicht pathogen.

Bakterie No. 33.

Agarplatte: Starke, gelbe, sich über die Oberfläche wölbende, blanke Kolonie. Mikroskopisch, homogen mit einem dunkleren, punktförmigen Zentrum. Makroskopisch gesehen, hebt dies sich noch höher ab als die übrige Kolonie und ist auch gelber; der Rand scharf.

Schrägagar: Dickes, braungelbes, blankes Wachstum an der ganzen Oberfläche; Rand etwas scharf.

Agarstich: Dünnes, fadenförmiges, weißliches Wachstum im Stichkanal, mit einer kleinen dicken, gelben, blanken Platte.

Gelatinestich: Wächst schlecht, oder fast garnicht auf Gelatine.

Milch koaguliert nicht.

Indolreaktion negativ.

Hängender Tropfen: Unbewegliche Staphylokokken.

Färbung nach Gram positiv.

Pathogenität: Für Mäuse nicht pathogen.

Bakterie No. 34.

Agarplatte: Regelmäßige, runde, 4 mm große Oberflächenkolonie, die von weißlicher Farbe, mit schwachem, rosa Schimmer; Konsistenz rahmartig. Mikroskopisch ist sie homogen und scharf konturiert.

Schrägagar: Dickes, rahmartiges, rötliches, blankes Wachstum mit verhältnismäßig scharfen Kanten.

Agarstich: Dünnes Bandwachstum im Stichkanal mit einer kleinen, dicken, rötlichen Platte.

Gelatinestich: Dickes, schleimiges Wachstum von feuchtem Aussehen, ohne jedoch die Gelatine zu peptonisieren. Farbe gelblichrot. Im Stichkanal dünnes Fadenwachstum.

Milch koaguliert nicht.

Indolreaktion negativ.

Hängender Tropfen: Unbewegliche Staphylokokken.

Färbung nach Gram positiv.

Pathogenität: Für Mäuse nicht pathogen.

Bakterie No. 35.

Agarplatte: 3 mm große, weißliche, opalisierende, unregelmäßige Oberfläche von Blätterform mit scharfen Rändern.

Agarstich: Dünnes, bandförmiges Wachstum im Stichkanal, mit kleiner, unregelmäßiger Platte an der Oberfläche. Starke Gasentwicklung in der Agarsäule.

Gelatinestich: Bandförmiges Wachstum in der Tiefe mit kleiner, blanker, weißlicher Platte. Gelatine nicht verflüssigt.

Milch koaguliert.

Indolreaktion positiv.

Laktosebouillon: Gasentwicklung; Sedimentbildung. Bouillon diffus getrübt.

Dextrosebouillon: Ebenso.

Hängender Tropfen: Schwach bewegliche, mikrokokkenartige Stäbchen.

Färbung nach Gram negativ. Kleine, kokkoide, an den Enden abgerundete Stäbchen.

Bakterie No. 36.

Agarplatte: Großes, weißliches, homogenes Wachstum auf der ganzen Platte mit zungenförmigen Ausläufern; ziemlich fest und etwas trocken; opalisiert wenig.

Agarstich: Dünnes, fadenförmiges Wachstum in der Tiefe. Das Wachstum an der Oberfläche gleicht etwas dem eines Mesentericus, hat jedoch ziemlich tiefe, radiierende Falten.

Gelatinestich: Dünnes Fadenwachstum in der Tiefe. Gelatine zylindrisch verflüssigt; dicke, lederartige, stark gefaltete, seidig schimmernde Haut auf der Oberfläche. Farbe gelblichgrau.

Kartoffel: Wachstum nicht überaus groß, gelblich und fettig; Kartoffel bräunlich.

Milch koaguliert nach Verlauf von ca. 4 Tagen; Reaktion neutral.

Hängender Tropfen: Kleines, kurzes, bewegliches, sporenbildendes Stäbchen.

Färbung nach Gram positiv. Große Mengen sporogener Körner; Sporen polar; Enden gut abgerundet.

Bakterie No. 37.

Gelatineplatte: Kleine, dünne, opalisierende Oberflächenkolonie, blank und unregelmäßig an der Kante. Peptonisiert nicht.

Gelatinestich: Ausgezeichnetes Bandwachstum in der Tiefe; im untersten Teile perlschnurartig. Weißliche, sich hervorwölbende, blanke Platte. Peptonisiert nicht.
Agarstich: Gutes Fadenwachstum in der Tiefe. Kleine, runde Platte an der Oberfläche mit einem weißlichen Streifen an der Peripherie.

Milch koaguliert; Reaktion sauer.

Indolreaktion positiv, aber schwach.

Laktosebouillon: Reichliche Gasentwicklung und Sediment.

Dextrosebouillon: Ebenso.

Hängender Tropfen: Kleines, kurzes Stäbchen mit außerordentlich ausgeprägter, schrauben- und peitschenförmiger Beweglichkeit.

Färbung nach Gram negativ.

Bakterie No. 38.

Agarplatte: Kleine, linsenförmige Kolonien in der Tiefe der Platte. Einige scheinen ein regelmäßiges, rundes und dunkles Zentrum und eine schmale, unregelmäßige, klare Peripherie zu haben.

Agarstich: Dünnes, fadenförmiges Wachstum in der Tiefe mit großer, blanker, unregelmäßiger Platte, welche sich schwer an der Agaroberfläche unterscheiden läßt, da sie fast dieselbe Farbe hat wie diese. Wächst sehr langsam.

Dextroseagar: Wächst wie auf gewöhnlichem Agar, produziert aber kein Gas.

Gelatinestich: Kein Wachstum in der Tiefe; Gelatine schalenförmig verflüssigt; peptonisiert langsam. Wächst viel langsamer als der gemeine *Bacillus fluorescens liquefaciens*. Fluoresziert grün.

Milch koaguliert nicht; Reaktion neutral.

Indolreaktion negativ.

Dextrosebouillon: Kein Gas, weißliches Sediment.

Laktosebouillon: Ebenso.

Hängender Tropfen: Ziemlich großes, kommaförmiges Stäbchen mit Vibrionbewegung.

Färbung nach Gram negativ.

Literaturverzeichnis.

- Anitschkow, N. N., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906.
 Ankersmit, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 359; Bd. 40. 1905. p. 100—118.
 Aumann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57.
 Bachmann, F., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 36. 1912.
 Ballner, F., Zeitschr. f. Biol. Bd. 45. 1904. p. 380—419.
 Baumann, München. med. Wochenschr. 1906. No. 25.
 Belonowsky, G., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907. p. 322.
 Bienstock, Arch. f. Hyg. Bd. 36. p. 336; Bd. 39. p. 390; Ann. Inst. Pasteur. T. 14. p. 750.
 Bisanti, Ueber die Mikrobenflora des Hundes. (Ref. Jahresber. üb. d. Leistg. a. d. Geb. d. Veterinärmed. 1903. p. 21.)
 Bjelaëff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903. p. 293. u. 369.
 Blau, Oskar, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 15. 1906. p. 97.
 Bongert, Bakt. Diagnostik. Leipzig 1908. p. 369.
 Brotzu, L., Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 17. 1895. p. 726.
 Buchholz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 56. 1907. p. 220.
 Catterina, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 12. 1904. p. 353.
 Debons, P., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62. 1912. p. 229.
 Eichstedt, Ueber den Durchfall der Kinder. Greifswald 1825.
 Eberle, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1896. p. 2.
 Ekert, J., Weitere Beiträge zum Vorkommen von Bacillen der Paratyphus-Gruppe im Darminhalt gesunder Haustiere. [Inaug.-Dissert.] Gießen 1909.
 Escherich, Die Darmbakterien des Säuglings. (Festschr. d. Med. Bd. 3. 1885. No. 16, 17; 1886.)
 Falk, Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. Bd. 93. p. 183.
 Finkelstein, Deutsch. med. Wochenschr. Bd. 22. 1900. No. 16.
 Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. Jena 1903. p. 133.
 Flügge, C., Die Mikroorganismen.
 Fraenkel, C., u. Pfeiffer, R., Mikrophotographischer Atlas der Bakterienkunde. 2. Aufl. 1895.
 Fränkel, S., Dynamische Biochemie. 1911. p. 206.
 Frank, Deutsch. med. Wochenschr. 1884.

- Freudenreich, Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 17. H. 3.
 Gabritschewsky, Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. 1891. p. 248.
 Ghon-Sachs, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902.
 De Giaksa, Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. p. 168.
 Globig, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1888. p. 294, 322.
 Gminder, Ad., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912. p. 152.
 Gottheil, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901.
 Gröning, Vergleichende Untersuchungen über die Streptokokken des Kuheuters.
 [Inaug.-Diss.] Bern 1901.
 Gruber, Th., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 17, Abt. II. 1907.
 Günther, K., Einführung in das Studium der Bakt. Leipzig 1898.
 Hamburger, Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. 1890. p. 218.
 Hammerl, Zeitschr. f. Biol. Bd. 35. p. 355.
 Hansen, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62. 1912. p. 89.
 Heim, L., Lehrbuch d. Bakteriologie. Stuttgart 1911.
 Heinick, E., Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. 29. 1903. p. 476.
 Henneberg u. Stohmann, Zeitschr. f. Biol. Bd. 3. 1885. p. 613.
 Henrici, Arbeiten a. d. bakt. Institut. d. Techn. Hochschule Karlsruhe. Bd. 1. 1894.
 p. 69.
 Hoffmann, A., Vorkommen d. Tetanuserregers in d. Faeces von Tieren. (Hyg.
 Rundsch. Bd. 15. 1905. p. 1233—1239.)
 Hofmeister, Centralbl. f. Agrikult.-Chem. 1885. p. 254.
 Holdefleiss, Centralbl. f. Agrikult.-Chem. 1896. p. 372.
 Horn, A., u. Huber, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61. 1911.
 Horowitz, L. M., Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 52. p. 95.
 Huber, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910.
 Hüttemann, W., Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora im normalen Darmtraktus
 des Kindes. [Inaug.-Dissert.] Bern 1905.
 Joest, E., Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1902. p. 241.
 Johnson, J. Ch., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 35. 1912.
 de Jong, A., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1912. p. 148.
 Kahrel, G., Arch. f. Phys. Bd. 10. 1890. p. 382.
 Kast, A., Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. p. 339.
 Kellermann, K., u. Mc Beth, G., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 34. 1912.
 p. 485.
 Kellner, Centralbl. f. Agrikult. Chem. 1898. p. 243, 460.
 Kisskalt u. Hartmann, Praktikum d. Bakteriologie u. Protozoologie. Jena 1909.
 Klein, Alex., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 27. 1900. p. 834.
 Klein, E., Centralbl. f. Bakt. 1895.
 Kliemenko, W. N., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. p. 755; Deutsch. med.
 Wochenschr. 1906.
 Koch, R., Mitt. a. d. Kaiserl. Gesundh.-A. Bd. 1. 1881. p. 35, 56.
 Kohlbrugge, J., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 29. 1901. p. 571; Bd. 30. 1901.
 p. 10—70; Arch. f. path. Anat. Bd. 163. 1901. p. 365—379.
 Kolle, W., u. Hetsch, Lehrb. d. experiment. Bakteriologie u. d. Infektionskrankh.
 König, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909.
 Kroulik, Alois, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 36. 1912. p. 339.
 Kruse, W., Allgem. Mikrobiologie. Leipzig 1910.
 Lehmann u. Neumann, Bakteriologie. Diagnostik. Bd. 1—2. 1910.
 Lembke, W., Arch. f. Hyg. Bd. 26. 1896. p. 293.
 Lignières et Spitz, G. S., Rec. de méd. vét. 1902. p. 546.
 Lindsey u. Holland, Centralbl. f. Agrikult.-Chem. 1899.
 Lissauer, Max, Arch. f. Hyg. Bd. 58. 1906. p. 136.
 Löhnis, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. 1910.)
 Lüssem, G., Vergleichende Untersuchungen über den Bac. suipestifer, Bac. para-
 typhi B. [Diss. Gießen]. Hettstedt 1909.
 Mandelbaum, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912. p. 46.
 Mazé, Centralbl. f. Agrikult.-Chem. 1904. p. 648.
 Mereschowsky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 380.
 Messerschmidt, Th., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912. p. 35.
 Metschnikoff, Mme., Ann. de l'Institut. Pasteur. T. 15. p. 631; zit. nach Schot-
 telius, Arch. f. Hyg. Bd. 42. 1902. p. 66.
 Migula, W., System der Bakterien. 1900.
 Morgan, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1905. p. 473.
 Moro, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. 211. 3. Folge Bd. 2. 1900.

- Müller, Arch. f. d. ges. Phys. Bd. 83. 1901. p. 619.
 —, Leo, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 17. 1907.
 Münter, F., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 36. 1913. p. 305.
 Nadson, G. A., u. Adamovic, S. M., Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 31. 1912.
 Neide, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904. p. 508.
 Neubauer, Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. 31. 1905. p. 153.
 —, J., Ueber anaërobe Bakterien im Rinderdarm. [Inaug.-Diss.] Bern 1905.
 Nocard, Les maladies microbiennes des animaux. 2. édit. 1903. p. 375.
 Nothnagel, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 3. 1881.
 Nuttall u. Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 21 u. 22.
 Omelianski, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 8. 1902. p. 711.
 —, Cellulosegärung. (Ibid. Abt. II. Bd. 8. 1902. p. 226, 711—714.
 Passini, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1905. p. 135; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902. p. 647.
 Pollak, R., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913. p. 288.
 Popoff, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 11. p. 217.
 Rahner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30. p. 239.
 Revis, Cecil, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 33. 1912. p. 407, 424.
 Rodella, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39 u. Bd. 41; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 29. 1901. p. 717; Bd. 37. 1904.
 Rudzinski, Centralbl. f. Agrikult.-Chem. 1904. p. 572.
 Salkowsky, Virchows Arch. Bd. 115. p. 339.
 Schottelius, Arch. f. Hyg. Bd. 34. p. 210.
 Scheel, R., Ein Beitrag zur Aetiologie der Aktinomykose des Rindes. [Diss.] Zürich 1909.
 Seelig, Virchows Arch. 1896.
 Stern, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 88.
 Strauß, J. u. Wurtz, R., Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. p. 39.
 Tappeiner, Zeitschr. f. Biol. Bd. 20. 1884.
 Tataroff, Streptococcus albicans, die Dorpater Wasserbakterie. [Inaug.-Diss.] 1891.
 Tissier, Thèse. Paris 1900.
 — H., Ann. de l'Institut Pasteur. T. 19. 1905. p. 109.
 —, Moro u. Finkelstein, zit. Ref. bei E. Hübner, Beiträge zur Bakteriologie des normalen Pferdedarmes.
 Titze u. Weichel, Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1908. No. 26.
 Trautmann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 44.
 Uhlenhuth, Hübener, Xylander u. Bohtz, Untersuchungen über das Wesen und die Bekämpfung der Schweinepest. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 27. 1908. p. 425.)
 Velzen, van, Das Vorkommen pathogener Mikroorganismen bei gesunden Schweinen. [Inaug.-Diss.] Bern 1907.
 Weiser, Centralbl. f. Agrikult.-Chem. 1904. p. 352.
 Weiß, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 36. 1904. p. 13—28.
 Wolf u. Israel, Virchows Arch. Bd. 126. 1891. p. 382.
 Wolff, A., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 34. 1912. p. 494.
 Wüthrich u. Freudenreich, Centralbl. f. Agrikult.-Chem. 1898. p. 285.
 Zeller, Untersuchungen über 40 aus kranken Kälbern gezüchtete Stämme des Paratyphus. [Inaug.-Diss.] Leipzig 1908.
 Zürn, Die pflanzlichen Parasiten auf und in dem Körper unserer Haustiere. (Zit. nach W. Hüttemann, Beiträge zur Kenntnis der Bakterienflora im normalen Darmtraktus des Rindes.) [Inaug.-Diss.]
 Zuntz, Centralbl. f. Agrikult.-Chem. 1892. p. 88.

Nachdruck verboten.

Studien über die Chagaskrankheit in Argentinien und die Trypanosomen der „Vinchucas“ (Wanzen, *Triatoma infestans* Klug).

[Aus dem Nationalen bakteriologischen Institut (protozoologische Abteilung) in Buenos-Aires (Direktor: Prof. Dr. R. Kraus).]

Von Dr. C. Magglo und F. Rosenbusch.

Mit 2 Tafeln.

Es ist schon durch die Studien von Chagas¹⁾ bekannt, welche Rolle in der Pathologie des Menschen Trypanosomen spielen, die man in den „Vinchucas“ (*Triatoma megistus* Klug) Brasiliens findet. Bei empfindlichen Tieren erzeugen diese Trypanosomen Veränderungen, wie sie beim Menschen von Chagas und G. Vianna beobachtet worden sind.

Die Chagassche Krankheit befällt nicht nur Kinder, sondern auch Erwachsene. Beim Kinde wird die akute Form beobachtet, die entweder mit dem Tode endet, oder in ein chronisches Stadium übergeht.

Die akute Form charakterisiert sich durch Hypertrophie der Schilddrüse, andauerndes Fieber, Schwellung des Gesichtes, Knistern der Gesichtshaut, allgemeine Drüsenschwellung, Hepato- und Splenomegalie.

In den chronischen Formen stehen im Vordergrund Symptome seitens des Nervensystems, Herz-Lungensymptome und Dystrophien. Chagas unterscheidet unter den chronischen Formen die pseudomyxödematöse, die myxödematöse, die kardiale und die nervöse Form.

In den akuten Formen fand Chagas stets Trypanosomen im peripheren Blute. In den chronischen Fällen erhielt er unter 232 untersuchten Kranken in 40 Proz. der Fälle positive Resultate (mittels Injektion der Meerschweinchen).

Vianna²⁾ konnte bei seinen histologischen Studien folgende Läsionen feststellen: Eine Polyorrhomenitis mit serösem Exsudat, Vergrößerung der Lymphdrüsen, degenerative Veränderungen der Leber, sklerotische und hypertrophische Läsionen der Schilddrüse, Myocarditis und Veränderungen der Nebenniere.

Hartmann hat im Strichpräparate aus der Lunge des infizierten Meerschweinchens die ersten Schizogoniestadien im Innern der Endothelzellen gefunden. G. Vianna konnte diese Schizogonie in 10 zur Obduktion gekommenen Fällen bestätigen; es handelt sich um richtige parasitäre Cysten, gefüllt mit Gebilden, die morphologisch der Leishmania ähnlich sind; andere Cysten enthalten im Gegenteil typische Trypanosomen.

Diese Cysten lokalisieren sich vorzugsweise in der quergestreiften Muskulatur und im Herzen, wo sie mitunter eine mononukleäre Infiltration hervorrufen, manchmal mit degenerativen Veränderungen der befallenen Zellen. Die den Cysten benachbarten Blutgefäße zeigen eine periphere Infiltration.

Im Nervensystem hat Vianna endocelluläre Cysten gesehen, wahrscheinlich in den Neurogliazellen, auch mit Infiltrationen. Diese Cysten

1) Mem. Osw. Cruz. Vol. 1. 1909; Vol. 3. 1911.

2) Vianna, Mem. Osw. Cruz. Vol. 3. 1911.

sind besonders in den zentralen Kernen der Brücke und der Medulla häufig.

Dieselben Lokalisationen wurden bei infizierten Versuchstieren beobachtet, beim Meerschweinchen außerdem in den Basalzellen der Tubuli seminiferi und im Innern der Spermatozoide.

Rocha da Lima und M. Mayer¹⁾ beschrieben dieselbe Schizogonie im Fett und Unterhautgewebe, im Knochenmark, im perivaskulären und perichondralen Bindegewebe, in der glatten Darmmuskulatur und in den Arterienwänden bei der weißen Maus, dem Affen und Meerschweinchen.

Chagas hat auch die Beziehungen, welche zwischen den Trypanosomen der „Vinchucas“ und denen der Menschen existieren, bewiesen. Er zeigte, daß die Trypanosomen bei empfindlichen Tieren (*Callithrix* und Meerschweinchen) dieselbe Entwicklung haben, wie beim Menschen. Ebenso konnte er gesunde Vinchucas infizieren, die mit trypanosomenhaltigem Blut von Tieren und Menschen gefüttert wurden. Er hat festgestellt, daß die Vinchucas 8—10 Tage brauchen, um infektiös zu werden, und konnte in der Flüssigkeit des Coelums und in den Speicheldrüsen die Anwesenheit kleiner Trypanosomen nachweisen.

Die speziellen Bedingungen, die zur Uebertragung der Krankheit mittels Stiches nötig sind, sind noch nicht hinreichend festgestellt. Man weiß nur, daß Vinchucas, die an infizierten Menschen und Affen gesogen haben, die Krankheit durch Stechen übertragen können, daß das aber nicht der Fall ist, wenn die Vinchucas auf kranken Meerschweinchen gefüttert werden (sodann entwickeln sich die Trypanosomen ähnlich wie in den Kulturen).

Brumpt²⁾ behauptet, daß die Uebertragung der Trypanosomen *Cruzi* nicht bloß durch Vinchucas, sondern auch durch gewöhnliche Wanzen mittels der auf die Haut oder Schleimhaut deponierten Faeces geschieht.

N. Lozano hatte Gelegenheit, während seines Aufenthaltes in Rio de Janeiro diesen Krankheitsprozeß zu studieren; es fiel ihm gleich die Ähnlichkeit auf, die das Symptomenbild mit einer Serie chronischer Erkrankungen hatte, welche bei den Einwohnern unserer nördlichen Provinzen beobachtet werden. Lozano wies als erster auf die Notwendigkeit hin, nachzuforschen, ob diese Krankheit auch in Argentinien existiert. Im Auftrage des Präsidenten des „Departamento Nacional de Higiene“, Herrn Dr. Penna, wurde eine Kommission ernannt, die Ende 1911 ihre Studien in der Provinz Salta begann. Es sind bei 13 verdächtigen Kranken Blutuntersuchungen und auch Probeinjektionen an Meerschweinchen gemacht worden. Von den 13 Kranken zeigten 6 einen chronischen Kropf und Idiotie (Erwachsene), 7 waren Kinder von 9—13 Jahren und hatten ebenfalls chronischen Kropf, eines von ihnen besaß auch eine Mitralinsuffizienz, Gesichtsschwellung und eine dunkle, bronzefarbige Haut, bei einem anderen Kinde konnte man eine Milzvergrößerung feststellen. Bei keinem dieser Fälle konnten wir Parasiten, weder bei direkter Blutuntersuchung, noch mittels Einspritzung von Meerschweinchen, feststellen. Selbstverständlich ist die Zahl der Untersuchten zu gering, um behaupten zu können, daß die Krankheit in Argentinien nicht existiert, da auch Chagas nur in einem geringen

1) Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1912. Beih. 5. 1914.

2) Bull. Soc. path. exot. T. 5. 1912; T. 6. 1913.

Prozentsatz der chronischen Fälle Parasiten gefunden hat. Es war uns nicht möglich, ganz kleine Kinder zu untersuchen, ebenso konnten wir keine Obduktion machen, um den Parasitenformen in den Geweben nachforschen zu können, jedoch sollen diese Untersuchungen fortgesetzt werden.

In Salta konnten wir jedoch folgendes feststellen: Die gewöhnliche Vinchuca (*Triatoma infestans* Klug) enthält in ihrem Darmkanal zahlreiche Flagellaten, die den von Chagas beschriebenen sehr ähnlich sind. In vivo findet man im Darminhalt Flagellaten, die sehr mobil sind und im Gesichtsfeld mit großer Geschwindigkeit sich bewegen, wobei die Geißel nach vorn gerichtet ist.

Man kann zwei Hauptformen unterscheiden, eine feine und flexible, mit schnellen Bewegungen, die dem Typus der Trypanosomen entspricht, und eine zweite, deren Bewegungen langsamer sind, und deren hinterer Körperteil mehr oder weniger starr ist. Diese letztere Form ist von viel größeren Dimensionen und wird besonders bei den Vinchucas beobachtet, welche längere Zeit im Laboratorium gehalten wurden; sie entspricht dem Typus der Crithidien.

In fixierten und gefärbten Präparaten kann man diese zwei Formen sehr gut unterscheiden; man findet aber auch allerlei Uebergangsformen.

Die Trypanosomen sind schmal und lang, sie werden besonders gut in feucht fixierten Präparaten gesehen und sind den von Schaudinn beschriebenen Entwicklungsstadien des *Leucocytozoon Ziemanni* ähnlich (Taf. I, Fig. 2, 3).

Der hintere Teil endet spitz, der übrige Körper zeigt durch die Geißel bedingte, leichte Schlängelung, dagegen verschmälert sich das vordere Ende allmählich bis zur freien Spitze.

Der Blepharoplast befindet sich am hinteren Sechstel des Körpers, ist voluminös und überschreitet oft in trocken fixierten, mit Giemsa gefärbten Präparaten die seitlichen Grenzen des Körpers; in der Peripherie sieht man Granulationen, die intensiv violett gefärbt sind, das Zentrum ist dagegen klarer (Taf. II, Fig. 1, 2, 5, 6, 7). In Präparaten, die nach Schaudinn fixiert und mit Eisen-Hämatoxylin gefärbt sind, zeigt der Blepharoplast ein intensiv gefärbtes Zentrum, gleich den karyosomischen Kernen von Hartmann, mit einer klaren, peripheren Zone, welche vom Plasma durch eine dunklere Zone getrennt ist. Von dieser peripheren Zone geht die Geißel aus, welche in eine kurze, undulierende Membran gehüllt ist und sich nach dem vorderen Ende des Körpers richtet, wo sie entweder endet oder in einen kurzen, freien Teil übergeht (Taf. I).

Der Hauptkern befindet sich in den hinteren drei Vierteln oder zwei Dritteln des Körpers, ist länglich wie ein Stäbchen und parallel dem großen Körperdurchmesser, abgerundet in breiten Formen, besitzt ein Karyosoma von verschiedener Größe und eine klare, perikaryosomische Zone mit einem feinen Reticulum, welches vom Plasma durch eine Membran getrennt ist. Das Protoplasma ohne Granulationen zeigt ein feines Reticulum mit Alveolen.

Die Länge der Trypanosomen beträgt 12–32 μ , die Breite 1–4 μ , das freie Flagellum 2–4 μ , der Blepharoplast ist 2 μ von der hinteren Extremität entfernt, sein querer Durchmesser ist 2–2,20 μ lang, der longitudinale 1–1,5 μ . Der Hauptkern in den schmalen Formen ist 5–6 μ lang, 0,8–1 μ breit, in den breiten Formen ca. 2,5 \times 2,5 μ .

Die Crithidien haben verschiedene Formen; sie sind spindelförmig,

rund, oval, mit der hinteren Extremität entweder rund oder spitz und lang. Die vordere Extremität ist fast immer schmal oder mehr oder weniger geschlängelt und endet mitunter mit einer kurzen, freien Portion der Geißel (Taf. I, Fig. 7—12; Taf. II, Fig. 3—4).

Der Blepharoplast befindet sich nahe am Hauptkern, entweder vorn (was am häufigsten ist), oder hinter demselben, und ist länglich im Sinne des queren Durchmessers des Körpers. Die Geißel ist in eine Plasmafalte gehüllt, fast bis zum freien Endteil.

Der Hauptkern ist beinahe immer rund, von derselben Struktur wie der Kern der Trypanosomen.

Das Protoplasma zeigt große Alveolen, besitzt zahlreiche Granulationen in den Riesenformen, welche sich mit Giemsa rosa-violett färben (Taf. II, Fig. 3—4).

Die Dimensionen sind: Länge $8,40\ \mu$, Breite $2\text{--}8\ \mu$, das freie Flagellum $2\ \mu$, der Blepharoplast $2\ \mu$ breit und $1\ \mu$ lang, der Kern $2 \times 3\ \mu$.

Man sieht selten runde Formen ohne Flagellum und andere mit Flagellum, aber ohne undulierende Membran, d. h. wirkliche Leptomonas.

Wir haben versucht, die relative Frequenz der Trypanosomen und der Crithidien in den Vinchucas festzustellen, und haben beobachtet, daß bei den frisch gefangenen in den nördlichen Provinzen die Trypanosomen etwa zweimal weniger zahlreich sind als die Crithidien. Dieses Verhältnis vermindert sich allmählich für die Trypanosomen, um öfters gänzlich zu verschwinden, bei den Vinchucas, die im Laboratorium gehalten werden, und bei welchen die Crithidien enorme Dimensionen erreichen, indem sie gleichzeitig ihre Beweglichkeit verlieren.

Die Vinchucas der verschiedenen Zonen der Republik, so der Provinzen Salta, Tucuman, Santiago del Estero, La Rioja, Catamarca, Córdoba, Santa Fé, Buenos Aires (nördlicher und westlicher Teil), La Pampa, haben Flagellaten in mehr oder weniger großer Menge. Dagegen waren die Vinchucas aus den südlichen Gegenden Rio Negro und Bahia Blanca frei von Parasiten. Es ist wahrscheinlich, daß die niedrige Temperatur dieser letzten Zonen die Entwicklung der Trypanosomen in den Vinchucas nicht begünstigt.

Der Prozentsatz der infizierten Vinchucas aus der Provinz Salta war unter 171 Untersuchten 71 mit positivem Befund, d. h. 40 Proz.; man beobachtet aber, daß die erwachsenen Insekten eine viel größere Proportion von infizierten aufweisen — 59 Proz., die Larven und Nymphen dagegen nur 1,8 Proz.

Dieses letztere Verhältnis läßt uns vermuten, daß die erwachsenen Vinchucas, welche die Binucleaten in so großen Mengen enthalten, sich außerhalb der Wohnungen infiziert hatten, woher beinahe unser ganzes Material stammte, denn wenn irgendein Bewohner Trypanosomen im Blute haben würde, so würden auch die Larven und Nymphen zahlreiche Flagellaten enthalten. Es ist wahrscheinlich, daß es tierische Parasiten-träger gibt, wie Chagas es beim Tatu beobachtet hat; allerdings haben wir bei den aus Corrientes und Córdoba stammenden Tatu keine Parasiten finden können. Möglich ist es, daß Untersuchungen der Larven und Nymphen das Auffinden infizierter Menschen erleichtern würden.

Im Laboratorium lassen sich die Vinchucas weiterzüchten, und besitzen wir jetzt schon die 2. Generation (die Entwicklung bis zur reifen Vinchuca dauert in Buenos Aires $1\frac{1}{2}$ Jahre). Bei den Insekten der

neuen Generation konnten wir nie spontan Flagellaten beobachten; die hereditäre Uebertragung ist demnach ausgeschlossen.

Wir haben auch versucht, ob die Infektion stattfinden könnte, wenn man gesunde *Vinchucas* zusammen mit infizierten hält und an gesunden Tieren füttern läßt. Anfangs wurde keine Infektion beobachtet, erst nach 3 Monaten konnte man Crithidien im Darmkanal autopsierter, gesunder *Vinchucas* finden. Die Kontrollinsekten blieben frei von Parasiten. Die Infektion könnte entweder durch die Faeces stattfinden, die stets zahlreiche Parasiten enthalten, oder dadurch, daß die einen *Vinchucas* sich auf Kosten der anderen ernähren, indem sie diese in den Bauch stechen und den Darminhalt aufnehmen. Wir haben mehrmals Gelegenheit gehabt, dies zu beobachten.

Die Uebertragung der Trypanosomen von *Vinchucas* auf Meerschweinchen und junge Hunde, auf welchen die Insekten gefüttert wurden, ist nicht gelungen. Ebenso waren die Resultate negativ, wenn man sie in einer solchen Weise fütterte, daß die Exkremente auf die Haut gelangten.

Als Kontrolle wurden gesunde *Vinchucas* gebraucht, die man an denselben Tieren saugen ließ, die zur Fütterung der infizierten Insekten dienten, und welche nach 1 Monat obduziert wurden; nie konnte man aber Trypanosomen oder Crithidien in deren Darmkanal finden.

Vice versa, bei den Meerschweinchen, die an interkurrenten Erkrankungen eingegangen waren, konnte man nie bei der histo-pathologischen Untersuchung cystische Formen feststellen.

Die subkutane oder intraperitoneale Injektion von *Vinchucas* stammender Faeces (mit Trypanosomen) rief bei weißen Mäusen, jungen weißen Ratten, Meerschweinchen und jungen Hunden eine Trypanosomiasis hervor. Die ersten Trypanosomen im Peripheriekreislauf wurden am 3.—18. Tage nach der Einspritzung beobachtet.

Beim Schaf, der Ziege, dem Rind und dem Pferd hat man keine Infektion erzielt. Bei den Mäusen entwickelt sich mitunter eine Parese mit Inkontinenz, gewöhnlich aber besteht eine schwere Anämie, welche das Tier allmählich schwächt; der Tod tritt im Laufe des 2.—4. Monats ein.

Bei jungen Hunden hat man auch Parese, Inkontinenz, starke Abmagerung und Anämie beobachtet.

Es gelingt, die Trypanosomiasis von Maus auf Maus zu übertragen, nicht aber von Maus auf andere empfindliche Tierarten. Wir bestätigen also die Beobachtungen, die Nägler an brasilianischem Material gemacht hat.

Die Trypanosomen des Blutes sind sehr beweglich, und in trocken fixierten Präparaten sieht man oft die Parasiten durch eine wirkliche Plasmorrhaxis zerstört, als Folge der exzessiven Mobilität während des Trocknens.

Die Dimensionen sind: Länge 7—14 μ , querer Durchmesser 1,5—4 μ , freies Flagellum 5—7 μ . Der Hauptkern befindet sich im Zentrum und hat eine Länge von 3 μ und eine Breite von 1,2 μ . Der Blepharoplast ist voluminös und liegt im hinteren Ende. Sein Durchmesser ist 1—3 μ (Taf. II, Fig. 9, 10).

In gut erhaltenen und fixierten Präparaten ist der Blepharoplast vom hinteren Körperende entfernt, aber gewöhnlich wird dieser Teil beim Trocknen des Blutes zerstört, und der Blepharoplast scheint die hintere Extremität zu besetzen, sogar die Ränder des Körpers überschreitend (Taf. II, Fig. 10).

Wir konnten keine morphologischen Unterschiede bei den Trypanosomen feststellen, die aus Salta, Catamarca, Tucuman, Córdoba, Buenos Aires und La Pampa stammten.

Bei der Obduktion zeigten die Tiere eine starke Abzehrung, degenerative Läsionen der Parenchymorgane und leichte Milzvergrößerung.

In den Schnitten verschiedener Organe (Herz, gestreifte Muskel, Muskulatur des Darmes, Bindegewebe der Speicheldrüse) fand man parasitäre Cysten, entweder endocellulär oder interstitiell, gleich den von Chagas beschriebenen. Die meisten von Parasiten befallenen Organe zeigen eine leukocytaire und mononukleäre Infiltration in Form von Knötchen; dasselbe sieht man im perivaskulären Gewebe.

Die Cysten sind von verschiedener Größe, länglich oder linear, je nach der Struktur des Gewebes. Man kann zweierlei Typen unterscheiden: Der eine mit Parasiten, die der *Leishmania* ähnlich sind, d. h. ovale Körper mit 2 Kernen, dem Hauptkern, welcher rund ist, und dem stäbchenförmigen Blepharoplasten. Der zweite Typus enthält Parasiten in Form von Trypanosomen.

Bei dieser letzten Form beobachtet man mitunter, daß die Parasiten in die benachbarten Lymphräume eindringen, und die Cyste Räume ohne Trypanosomen zeigt, mit anderen Worten, die Trypanosomen siedeln in den Kreislauf über. Diese Tatsache bestätigt die Beobachtung von Chagas, welcher annimmt, daß die Trypanosomen sich in den Geweben und nicht im Blute vermehren; er stützt sich darauf, daß man im Blute keine Teilungsformen findet. Damit wird auch die Tatsache erklärt, daß die Zahl der Trypanosomen im Blute so sehr wechselnd ist, wie es von Dr. Uvo Vagni festgestellt worden ist. Er entnahm in verschiedenen Zeitabständen 1 Tropfen Blut und zählte die Trypanosomen; obwohl er diese Zählung nicht täglich machen konnte, geben doch seine Zahlen eine annähernde Idee von den Oscillationen.

Z. B. wurde eine weiße Maus subkutan mit Blut einer anderen Maus injiziert, welches Trypanosomen enthielt.

Die Menge der Parasiten in jeder Cyste ist verschieden; sie sind aber fast immer sehr zahlreich.

Im Endothelium der Lunge haben wir eine Schizogonie des Typus *Leishmania* gesehen (Taf. II, Fig. 8).

In Strichpräparaten des Knochenmarkes beobachtet man *Leishmania*-Formen, die aber ein feines Flagellum, wie die *Leptomonas*, besitzen (Taf. II, Fig. 12).

Vom Peripherieblute, Herzmuskel, von der gestreiften Muskulatur und der Milz wurden Kulturen in Blutbouillon und Blutagar angelegt, die zahlreiche Kolonien von runden und länglichen, unbeweglichen Formen (*Leishmania*-Formen) ergaben; diese Formen bekommen allmählich ein Flagellum, bis sie die typische Form der Crithidien erreichen. Die Ueberimpfung ist leicht.

Es ist uns auch gelungen, unsere *Vinchucas* (*Triatoma infestans* Klug) mit *Schizotrypanum Cruzi* zu infizieren, welches uns in lebenswürdiger Weise von Dr. Chagas zur Verfügung gestellt wurde: Es kam sehr schnell, nach einer einzigen infizierenden Fütterung, zur Entwicklung von Crithidien. Gleiche Infektion wurde durch Trypanosomen bedingt, die wir auf Tiere mittels Faeces unserer *Vinchucas* übertragen haben.

Wenn die *Vinchucas* an Meerschweinchen verfüttert werden, die mit

„mal de caderas“ infiziert sind, oder an Ratten mit Lewisi, verschwinden die Trypanosomen in den Vinchucas sehr schnell.

Zusammenfassend, können wir sagen, daß die Vinchucas des Nordens und Zentrums der Argentinischen Republik in ihrem Darmkanal Trypanosomen enthalten, die auf bestimmte Tiere übertragbar sind und sich vorzugsweise im Herzen und in den gestreiften Muskeln in Form von *Leishmania* und Trypanosomen lokalisieren, ähnlich wie das *Schizotrypanum Cruzi*, und welche, gleich diesen, leicht zu kultivieren sind.

Es werden die Forschungen weitergeführt, um die Evolution der Trypanosomen in den Vinchucas, deren Uebertragung, die Virusträger und die Differenzierung der Trypanosomen festzustellen.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Darmflagellaten der Vinchucas.

(Schaudinn-Fix., Eisenhämatox. — Apochr. 2 mm \times Komp.-Ok. 12.

No. 1—4. Verschiedene Trypanosomenstadien.

No. 5. Uebergangsstadien in Crithidien.

No. 6—12. Crithidien.

Tafel II.

No. 1—2.) Darmtrypanosomen der Vinchuca.

No. 5—7.)

No. 3—4. Crithidien.

No. 8. Endocelluläre Stadien im Lungenendothel.

No. 9—10. Trypanosomen des Blutkreislaufes der Mäuse.

No. 11—12. Trypanosomen und *Leptomonas*-Formen im Knochenmark der Mäuse.

(Fix. Methylalk. — Giemsa-Koch-Färbung.)

Apochr. 2 mm — Ok. m-12.

Nachdruck verboten.

Ueber Pneumocystis Carinii.

[Pasteur-Institut von São Paulo, Brasilien.]

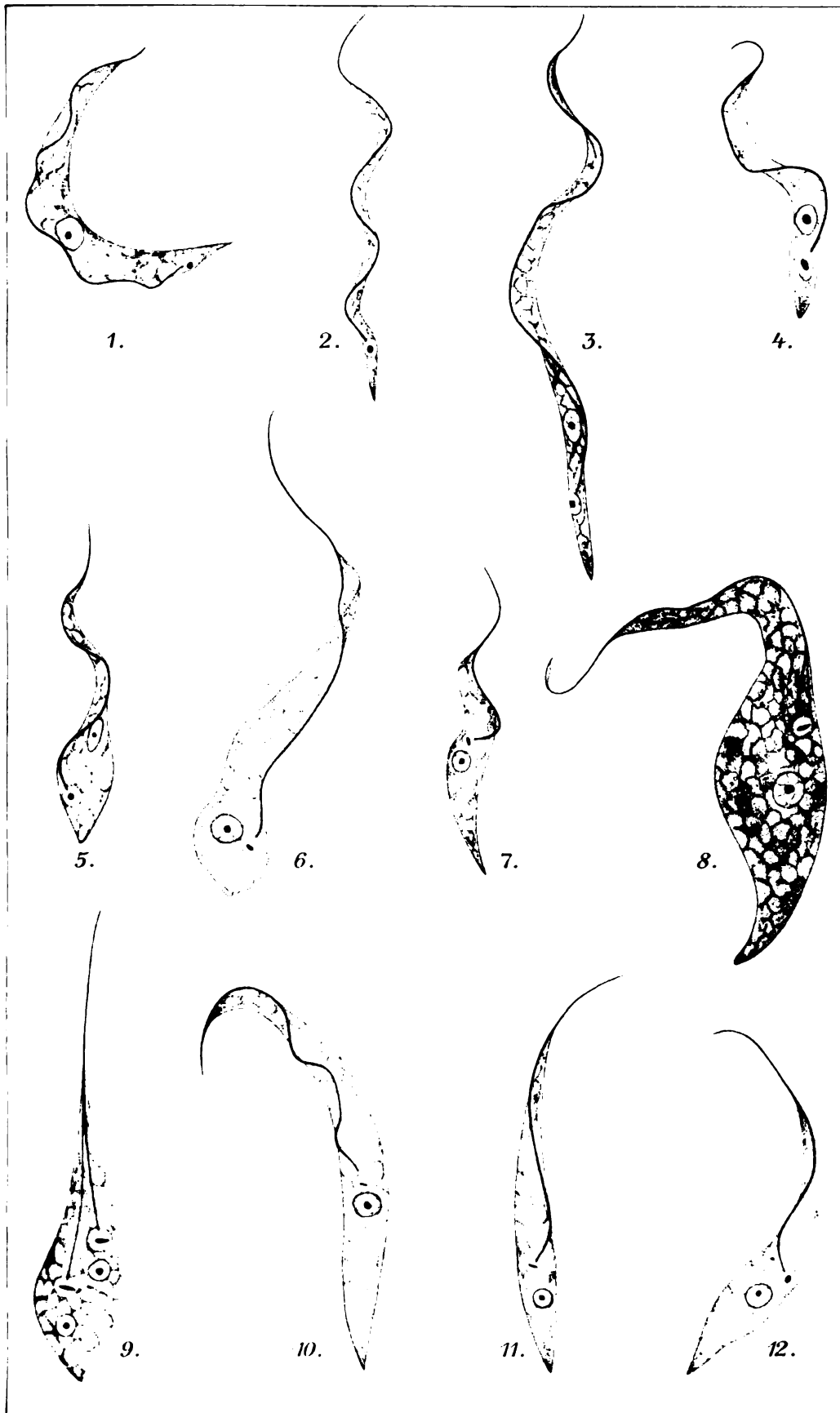
Von **A. Carini** und **J. Maciel**.

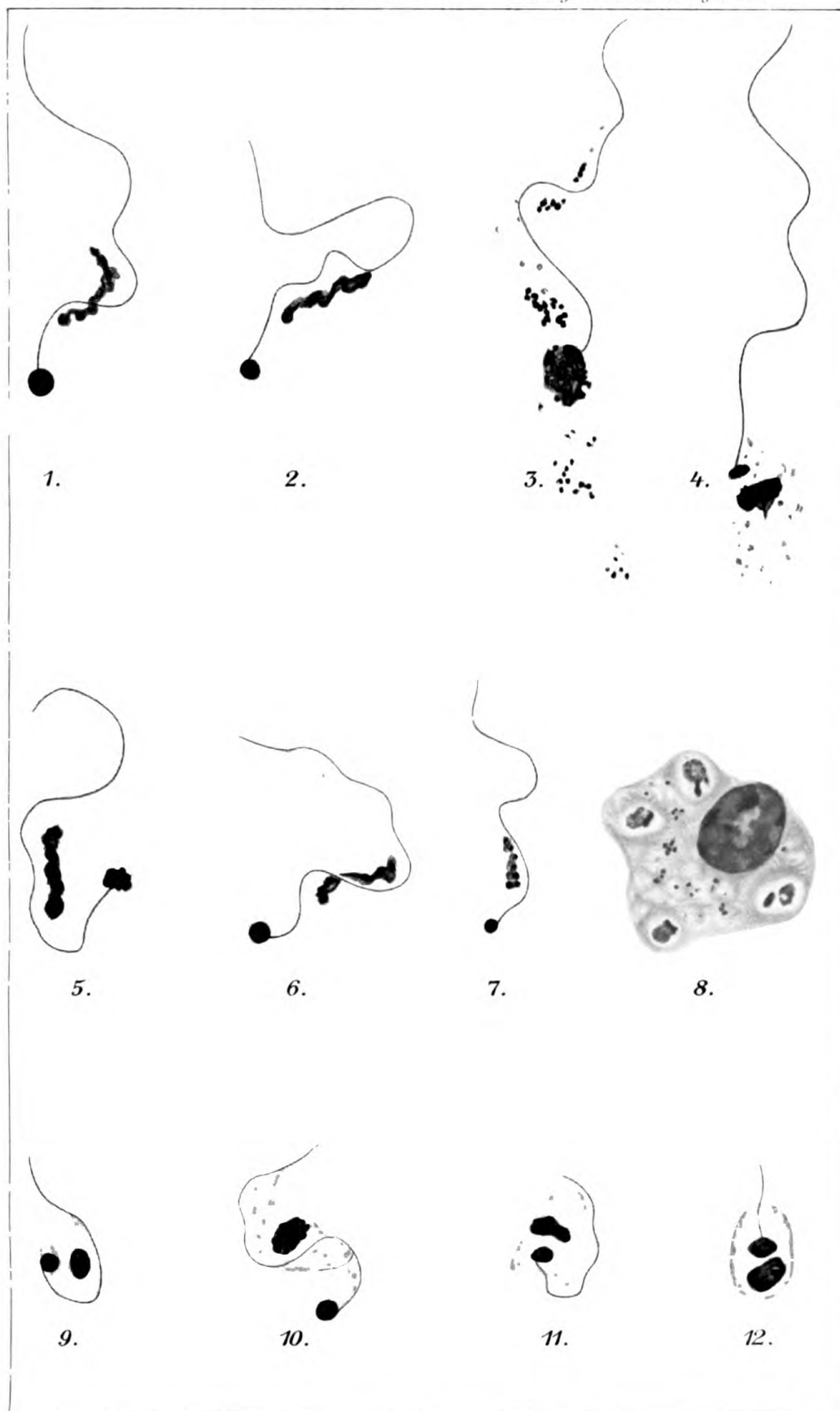
Mit 1 Tafel.

Als C. Chagas den Vermehrungsprozeß des von ihm entdeckten *Trypanosoma Cruzi* untersuchte, beobachtete er in der Lunge der infizierten Meerschweinchen kleine Cysten mit 8 Elementen, welche er als Entwicklungsstadien des *Trypanosoma* auffaßte.

Chagas dachte, es handle sich um eine Gametogonie, und glaubte, die Umwandlung des Trypanosomen gesehen zu haben, wie er nach Verlust der Geißel und der undulierenden Membran sich abrundete; hierauf folge ein Kernteilungsprozeß, durch welchen es zur Bildung von Cysten mit 8 Merozoiten komme. Demselben Autor zufolge wären 2 Arten von Merozoiten zu unterscheiden, solche mit nur 1 Kerne und andere mit Kern und Blepharoblast.

Bald darauf entdeckte Carini in der Lunge mit *Trypanosoma Lewisi* infizierter Ratten Cysten, welche in morphologischer Hinsicht den von Chagas beschriebenen ähnlich waren. Durch die Darstellung dieses Autors beeinflußt, nahm Carini einen gleichen Vermehrungsprozeß für *Trypanosoma Lewisi* an.





Etwas später noch beobachtete Vianna an Strichpräparaten der Lunge von Tieren, welche mit *Trypanosoma gambiense*, *equinum*, *congolense* und *equiperdum* infiziert waren, das Vorhandensein derselben Cysten, welche er als Entwicklungsphasen dieser Trypanosomen betrachtete.

Walker fand die gleichen Cysten in der Milz mit *Trypanosoma Evansi* infizierter Meerschweinchen.

Einige Lungenpräparate von Ratten mit *Pneumocystis*, welche von Carini an Prof. Mesnil gesandt wurden, gab letzterer behufs besserer Untersuchung an Mr. und Mme. Delanoë weiter, da ihm die bis dahin gegebene Darstellung fraglich erschien.

In der 2. Auflage (1912) ihres klassischen Werkes über Trypanosomen beschreiben Laveran und Mesnil die Lungencysten von Carini, welche auf p. 268 abgebildet werden, ohne jedoch feststellen zu können, welcher Platz ihnen im Entwicklungszyklus des *Trypanosoma Lewisi* zukommt.

Unterdessen gelang es Mr. und Mme. Delanoë, Lungencysten in Pariser Ratten zu entdecken, und nach sorgfältiger Untersuchung ergab es sich, daß sie gar nichts mit *Trypanosoma Lewisi* zu tun haben, sondern einen neuen Parasiten darstellen, welchem sie den Namen *Pneumocystis Carinii* gaben.

Die von dem Ehepaar Delanoë festgestellte Tatsache hatte insofern große Wichtigkeit, als bis dahin die Gegenwart der Lungencysten bei der experimentellen Diagnose der brasilianischen Trypanosomiasis für entscheidend betrachtet worden war.

Hierauf wurde die ganze Frage nochmals gründlich untersucht, und bald nachher konnten Aragão, Chagas, Guerreiro und Machado neben der Bestätigung der Darstellung Delanoës nachweisen, daß die Lungencysten auch in normalen Tieren verschiedener Art vorkommen, welche zweifelsohne frei von Trypanosomen waren.

Unsererseits haben wir reichlich Gelegenheit gehabt, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde zu untersuchen, welche zum Teil sehr stark mit Pneumocysten infiziert waren, und wir benutzten den Anlaß nicht nur zu einem gründlichen morphologischen Studium des Parasiten, sondern auch zu Versuchen behufs experimenteller Uebertragung.

Pneumocystis wurde bis jetzt bei Meerschweinchen, Sandhasen (*Cavia rufescens* Lund), Ratten, Kaninchen, Hunden, Katzen, Ziegen und Schafen angetroffen. Seine Gegenwart beim Menschen ist einstweilen als zweifelhaft zu betrachten; jedenfalls äußert Chagas, welcher den Parasiten in einem Falle menschlicher Trypanosomiasis angetroffen zu haben glaubte, später in dieser Hinsicht einige Zweifel, indem er zugab, es könnte eine Verwechselung von Präparaten stattgefunden haben.

Aus der vorstehenden Aufzählung ist zu ersehen, daß in einer nicht geringen Zahl von Tierarten *Pneumocystis* parasitiert; allem Anscheine nach sind aber noch lange nicht alle Wirte bekannt.

Was die Häufigkeit der Parasiten betrifft, so ist dieselbe, wenigstens in Brasilien, eine sehr bedeutende. So hat Aragão sie 8mal unter 37 Kaninchen, 11mal unter 46 Meerschweinchen und 2mal unter 7 Ratten angetroffen.

Hinsichtlich der Lokalisierung der Parasiten scheint die Lunge das einzige Organ zu sein, in welchem sie gefunden werden.

Es fehlen aber noch die nötigen Belege, um zu entscheiden, ob jeder Tierart eine besondere Parasitenart entspricht, oder ob im Gegenteil alle bisher beobachteten Pneumocysten nur einer einzigen Species angehören.

Es sei jedoch bemerkt, daß wir zuweilen kleine morphologische Unterschiede zwischen Pneumocysten verschiedener Wirte beobachtet haben; es handelt sich aber um so unbeständige und geringe Abweichungen, daß wir es einstweilen nicht wagen, daraufhin spezifische Abtrennungen vorzunehmen.

In pathogener Hinsicht scheinen die Pneumocysten eine sehr geringe Rolle zu spielen und gewöhnlich keinerlei Krankheitssymptome zu bedingen; doch sei bemerkt, daß wir bei einem Hunde, dessen Lunge zahlreiche Parasiten enthielt, wiederholt Hustenanfälle wahrnahmen.

Die Untersuchung der Organe erweist keine makroskopischen Läsionen; nur eine gewisse Hyperämie der Lunge findet sich gewöhnlich bei reichlich von den Parasiten befallenen Tieren.

Zur cytologischen Untersuchung der Parasiten benutzten wir Strich- und Tuschepräparate. Um reichlich mit Parasiten besetzte Proben zu erlangen, empfiehlt es sich, die Tiere verbluten zu lassen; ein Stück der Lunge wird dann auf dem Objektträger sorgfältig zerkleinert, so daß die fibrösen Teile von dem parenchymatösen Gewebe nebst dessen Säften, welche zur Untersuchung dienen, entfernt werden.

Unsere frischen Proben fixierten wir mittels Sublimatalkohols (nach Schaudinn), die trockenen mit absolutem Aethyl- oder Methylalkohol. Gefärbt wurde mit Giemsa, Leishman und Eisenhämatoxylin. Nie konnten wir bei Untersuchung frischer Proben etwaige Bewegungen wahrnehmen.

In den nach Giemsa gefärbten Präparaten haben die Pneumocysten die Form abgerundeter oder ein wenig ovaler Körperchen von 5 μ Durchmesser; die zarte, eosinophile Kapsel enthält 8 kleine, keulenförmige Merozoiten von 1—2 μ Länge und 0,5 μ Breite mit deutlichem, hellroten Kerne und zartem Saume von blauem Protoplasma. Die Merozoiten bilden gewöhnlich an der Peripherie einen rosettenförmigen Kreis, welcher sich an die Kapsel anschließt, und nicht selten rückt eins dieser Elemente gegen das Zentrum der Cyste hin vor.

Chagas behauptet, einige Cysten gesehen zu haben, welche Merozoiten mit Blepharoblast enthielten; wir konnten jedoch nie in unseren Präparaten dieses so wichtige, strukturelle Element sehen.

Immer sahen wir nur 1 Kern. Doch glauben wir, unter unseren Präparaten solche Cysten gesehen zu haben, die einen dichteren Kern und ganz blaues Protoplasma hatten (Fig. 9 und 22), und deren in regelmäßiger Rosettenform angeordnete Merozoiten größer waren, sowie solche mit kleineren, unregelmäßig verstreuten Merozoiten mit geringerer, chromatischer Substanz und wenigem, schwach gefärbtem Protoplasma (Fig. 23—24).

Auf keine Weise können wir uns den Grund dieser Verschiedenartigkeit erklären.

Neben den Cysten mit vollendetem Kernteilungsprozesse beobachteten wir eine ganze Serie von Stadien, und wir möchten daher glauben, daß der ganze Entwicklungszyklus des Parasiten sich in der Lunge abspielt.

Der kleine Körper, welcher aus der Cyste heraustritt, vergrößert sich allmählich, und sein Chromatin, welches im Anfange kompakt ist,

zerfällt, so daß es zur Bildung von Elementen mit 2, 4 und 8 chromatischen Körperchen kommt.

Nie gelang es uns, den Austritt der Merozoiten zu beobachten; wir wissen daher nicht, ob dieselben alle auf einmal durch Zerreißen der Hülle in Freiheit gesetzt werden, oder ob sie einzeln, etwa durch Poren der Kapsel, herausgelangen.

Einmal befreit, nehmen die keulenförmigen Merozoiten zuerst eine ovale, dann eine abgerundete Form an und gleichzeitig nimmt auch ihre Größe zu. In diesem Stadium erkennt man sie in den mit Giemsa gefärbten Präparaten als kleine, 3–4 μ messende Körperchen mit deutlichen, etwas diffusen, lebhaft rot gefärbten Kernen und blauem, in der Umgebung des Kernes etwas hellerem Protoplasma. Hier sahen wir ebenfalls immer nur einen Kern, wenngleich man auch manchmal, zu Anfang der Kernteilung, aberrante Chromatinkörperchen beobachtet, welche einen Blepharoplasten vortäuschen können (Fig. 13).

Die *Pneumocysten* werden gewöhnlich frei angetroffen, doch finden sie sich auch manchmal innerhalb der Zellen (Fig. 25–26). Bei der Untersuchung von Schnitten suchten wir die Lage der Parasiten zu ermitteln und haben, wie Chagas, gefunden, daß sie sich am häufigsten in der Höhe der Kapillaren vorfinden.

Gemäß ihrer Beobachtung, daß Meerschweinchen ihre Jungen infizierten, glauben Mr. und Mme. Delanoë an die Möglichkeit der unmittelbaren Uebertragung.

In dem Bestreben, die Art und Weise aufzuklären, wie die Verbreitung des Parasiten erfolgt, suchten wir festzustellen, wohin die in der Lunge gebildeten Cysten gelangen. Wir nahmen zuerst an, sie könnten während der Hustenanfälle ausgestoßen werden, und untersuchten daher den Bronchial-, Tracheal- und Pharyngealschleim und ebenso den Speichel, doch haben uns diese Nachforschungen bisher zu keinem Resultat geführt.

Schließlich versuchten wir auch die experimentelle Uebertragung. Von einem reich von Parasiten befallenen Hunde mit vollkommen entwickelten Cysten nahmen wir die Lunge und fütterten damit je eine Ratte, ein Meerschweinchen, ein Kaninchen und auch einen Hund. Alle diese Tiere wurden sodann nach Verlauf von 2–4 Wochen getötet. Nur in der Lunge des Meerschweinchens wurden Parasiten in verschiedenen Entwicklungsstadien angetroffen. Aber aus diesem Versuche kann keine Schlußfolgerung gezogen werden, da man ja auch häufig spontan infizierte Meerschweinchen antrifft.

Unsere Beobachtungen bestätigen also die schon bekannten Mitteilungen von Delanoë, Aragão und Chagas und zeigen, daß die Lungencysten in keinerlei Zusammenhang mit den Trypanosomen stehen. Es handelt sich vielmehr um Entwicklungsstadien eines neuen Parasiten, des *Pneumocystis Carinii*, welcher ziemlich häufig in der Lunge verschiedener Tiere angetroffen wird.

Literatur.

- Chagas, Carlos, Nova trypanozomíase humana. (Mem. do Instit. Oswaldo Cruz. T. 1. 1909. p. 159.)
 Carini, A., Formas de eschizogonia do Trypanozoma Lewisi. (Comm. a Soc. de Med. de S. Paulo 16 de Agosto de 1910.)
 Vianna, G., Algumas notas sobre o cyclo evolutivo do Trypanozoma gambiense. (Brasil Medico. 1911. p. 61.)
 —, Algumas phases da evolução dos Trypanosomas equineo e congolens. (Ibid. p. 103.)

Erste Abt. Orig. Bd. 77.

Heft 1.

4

- Vianna, Notas sobre a biologia dos Trypanosomas gambiense, equinum, congolense e equiperdum. (Ibid. 1912. p. 52.)
- Delanoë, Mr. e Mme. Pierre, Sur les rapports des kystes de Carini du poumon de rats avec le Trypanosoma Lewisi. (Compt. rend. Acad. Scienc. T. 155. 1912. p. 658.)
- , De la rareté de Pneumocystis Carinii chez les cobayes de la région de Paris. Absence de kystes chez d'autres animaux (lapin, grenouille, anguilles). (Bull. Soc. Pathol. exot. T. 7. 1914. No. 4.)
- Laveran et Mesnil, Trypanosomes et trypanosomiasés. 2. éd. Paris 1912.
- Aragão, H. de Beaurepaire, Nota sobre as schizogonias e gametogonias dos Trypanosomas. (Brasil Medico. 1913. p. 271.)
- Chagas, C., Revisão do cyclo evolutivo do Trypanosoma Cruzi. (Brasil Medico. 1913. p. 225.)
- Walker, E. L., The schizogony of Trypanosoma Evansi in the spleen of the vertebrate host. (Philippine Journ. of trop. Med. B. Vol. 7. 1912. p. 53.)

Erklärung der Tafel.

gl rote Blutkörperchen. Fig. 1—9 Entwicklung von Pneumocystis Carinii in Lungen von Kaninchen. Fig. 10—25 Entwicklung von Pneumocystis Carinii in Lungen von Hunden. Fig. 25—26 Pneumocystis innerhalb der Lungenzellen.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über den Desinfektionswert stark bewegter, trockener Heissluft.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Landwirtschaftskammer für die Provinz Sachsen in Halle a. S. (Leiter: Professor Dr. Raebiger).]

Von Dr. H. Rautmann, Abteilungsvorsteher.

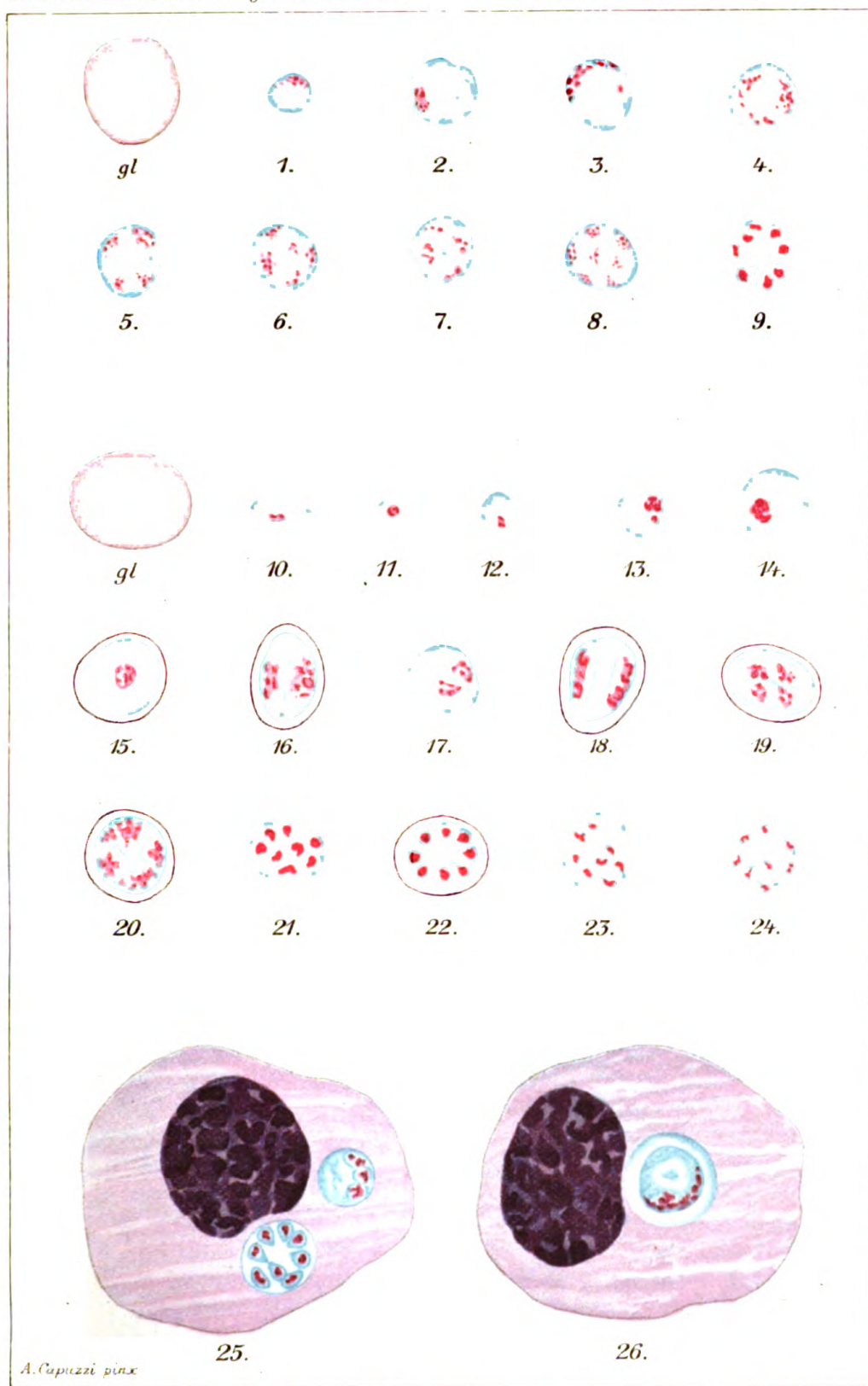
Mit 7 Textfiguren.

Bei einer Desinfektion mit heißer Luft dürften nach allgemeiner Anschauung zwei gemeinsam wirkende Ursachen die Hauptrolle spielen. Zunächst die Austrocknung der Mikroorganismen, weil hierdurch osmotische Störungen bedingt werden, der empfindliche Bakterien erliegen. Besonders vegetative Keimformen, die etwa 80 Proz. Wasser enthalten, sind durch Austrocknen dem Untergang geweiht. Anders verhalten sich die Sporen, deren Leibessubstanz aus einem sehr konzentrierten, wasserarmen Eiweißkörper besteht, welcher zudem noch durch eine starke, celluloseartige Hüllmembran geschützt ist.

Das zweite wirksame Prinzip bei der Verwendung von Heißluft ist in der Gerinnung des lebenden Eiweißes zu suchen.

Diese tritt im Gegensatz zu trockener Hitze bei Einwirkung feuchter Wärme (strömendem oder gespanntem Wasserdampf) besonders schnell auf, weil die letztere durch Wasserabgabe an die im trockenen Zustande überaus hygroskopischen Keime zunächst Quellung und dann Gerinnung ihrer Leibessubstanz bedingt.

Von einer praktisch verwertbaren Entseuchung infizierter Gegenstände muß aber noch mehr als das Vorhandensein eines zur Keimtötung erforderlichen Agens verlangt werden. Ebenso wichtig ist auch die Forderung, daß das bakterizide Prinzip schnell an die im Innern umfangreicher Desinfektionsobjekte befindlichen Ansteckungstoffe herangetragen wird, und daß durch die Desinfektion lediglich die Krankheitskeime, nicht auch die Träger derselben, Schaden erleiden. Schließlich spielt für ein



Carini u. Maciel comp.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Lith. Justv. K. Wessner, Jena.

brauchbares Entseuchungsverfahren auch der Kostenpunkt eine nicht zu unterschätzende Rolle.

Während die Austrocknung allein wohl kaum zur Desinfektion im großen praktisch Verwendung findet, besitzt die Benutzung des strömenden Wasserdampfes den Vorteil, daß er die zu entseuchenden Objekte, selbst schlechte Wärmeleiter, schnell durchdringt und so die Wärme als die Ursache der Vernichtung der Bakterienzellen an diese heranbringt. Die feuchte Luft des Wasserdampfes ist hierzu eher befähigt, als die unter gewöhnlichen Verhältnissen bisher benutzte „ruhende“ Heißluft, weil die in eine gesättigte Dampfatmosphäre eingebrachten Gegenstände kälter sind, und daher der Dampf an ihrer ganzen Umfläche in feinsten Wassertröpfchenform kondensiert wird. Ist hier aber eine der Temperatur des einhüllenden Wasserdampfes entsprechende Menge von Wärme abgegeben, so verwandelt sich das Kondenswasser wieder in Dampf, während sich zentripetal fortschreitend der geschilderte Vorgang wiederholt, bis die Desinfektionsobjekte vollständig durchwärmt sind.

Da sich also gewissermaßen das zu entseuchende Material nach und nach mit Wasser durchtränkt und dieses die Wärme bedeutend besser leitet als die Luft, ist nicht diese, sondern das Wasser als der Temperaturträger zu betrachten.

Demgegenüber ist eine Erklärung für die schlechte Durchhitzung umfangreicher Gegenstände (Wolle, Watte, Werg, Betten usw.) mit trockener Heißluft darin gegeben, daß die von diesen Objekten eingeschlossene „ruhende“ Luft ähnlich den Doppelfenstern unserer Wohnräume wirkt und den Wärmeaustausch erschwert.

Eine weitere Erschwerung des Temperatúrausgleiches ist darin zu erblicken, daß die im freien Raum des allseitig abgeschlossenen Desinfektionsapparates befindliche, stärker erwärmte Luft infolge ihrer größeren Ausdehnung eine Spannung auf die von den Desinfektionsobjekten eingeschlossene, kältere Luft ausübt und damit dem Wärmeaustausch einen erheblichen Widerstand entgegensetzt. Dieser nimmt, da der Ausdehnungskoeffizient der Gase zugleich ihr Spannungskoeffizient ist und sich die Luft bei einer Erwärmung um 1°C und gleichbleibendem Rauminhalt um $\frac{1}{273}$ ihres Volumens ausdehnt, bei einer Temperaturdifferenz von 100°C um $\frac{100}{273}$, also schon etwa um $\frac{1}{3}$ zu.

Den Vorteilen der Dampfsterilisation stehen aber nun auch schwerwiegende Mängel entgegen! So ist eine Desinfektion von Ledersachen unmöglich, weil diese direkt unbrauchbar würden, empfindliche Farben leiden, geleimte Gegenstände fallen auseinander, Rostflecke lassen sich oft nicht vermeiden und dürften besonders guter Wäsche gefährlich werden, alle Lackierungen werden beschädigt, Kleidungsstücke verlieren ihre Form und können daher nicht sofort wieder in Gebrauch genommen werden. Dazu kommt, daß die Kosten der Dampferzeugung unverhältnismäßig höhere sind als diejenigen einer Erwärmung der Luft.

Diese Nachteile haften der Trockenluftsterilisation nicht an. Diese würde daher in der Desinfektionspraxis eine weite Verbreitung finden, wenn sich die Ursachen für das beschriebene, mangelhafte Eindringen der Wärme vermeiden ließen.

Nach theoretischen Ueberlegungen müßte dieses gelingen, ließe sich einerseits die keimtötende Heißluft in so starke Bewegung versetzen, daß sie durch alle Desinfektionsobjekte gepreßt wird und andererseits, wenn der durch die Erwärmung des Desinfektionsraumes entstehende

Ueberdruck beseitigt werden könnte. Letzteres darf natürlich nicht in der Weise geschehen, daß dabei ein Entweichen von Krankheitskeimen an die Außenluft möglich ist.

In Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte ist das für meine Versuche, die nachstehend auszugsweise beschrieben werden sollen, benutzte Modell eines Entseuchungsapparates (Fig. 1), das der Fabrikbesitzer, Ingenieur Vondran-Halle a. S., gebaut hatte, nach und nach vervollständigt worden.

Das bakterizide Prinzip dieses Apparates beruht auf der Einwirkung stark bewegter Heißluft, die sich im ständigen Kreislauf befindet. Aus dem in der Fig. 2 wiedergegebenen Schema ist der Weg des Luftstromes zu ersehen.

Ein durch Elektrizität getriebener Motor setzt einen starken Ventilator (*v* Hochdruckgebläse) in Gang. Dieser treibt den erzeugten Luftstrom zwangsläufig über einen walzenförmigen Heizkörper (*h*) in der Weise, daß zunächst die peripheren, dann die zentralen Abschnitte

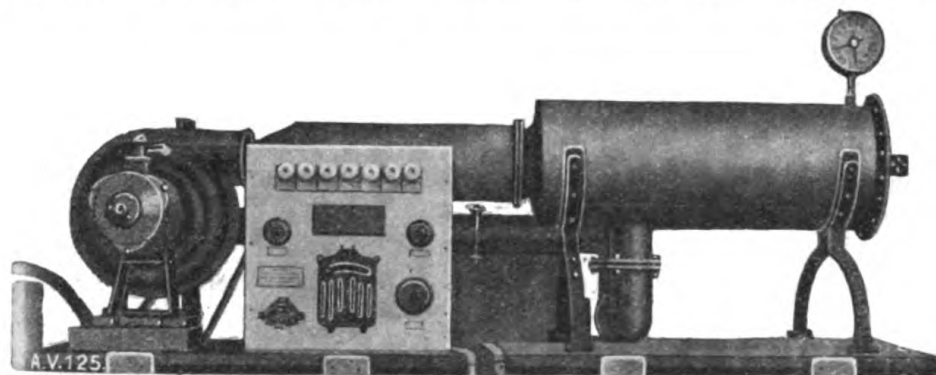


Fig. 1.

berührt werden. Die erhitzte Luft wird nun in den Desinfektionsraum (*d*) getrieben, wo sie aus siebartigen Oeffnungen des Bodens austritt und die zu desinfizierenden Objekte durchströmen muß, um durch ein Abzugsrohr (*a*) wieder abgesaugt zu werden und nach dem Ventilator (*v*) zurückzuwandern.

Da nur das vom Apparat eingeschlossene Luftquantum zu erwärmen ist, läßt sich die zur Entseuchung erforderliche Hitze schnell und billig erreichen. Die entwickelten Temperaturgrade zeigt ein in den Desinfektionsraum eingelassenes Federthermometer (*f*), das mit einer elektrischen Kontaktvorrichtung versehen ist, an. Sobald die erwünschten Wärmegrade erreicht sind, schaltet diese automatisch den Erhitzer aus, so daß nur noch das Hochdruckgebläse in Tätigkeit bleibt. Sinkt die Temperatur im Desinfektionsraum, so wird durch den Thermoregulator der Heizkörper gleichfalls automatisch wieder in Tätigkeit gesetzt.

Auf diese Weise wird ein Verbrennen der Desinfektionsobjekte vermieden und elektrische Kraft gespart.

Da der Vondransche Apparat zunächst nur der Entlausung dienen sollte, wurden die Prüfungsversuche zuerst nur auf die Abtötung von höher organisierten, tierischen Lebewesen (Parasiten) ausgedehnt.

Um die Verteilung der im Desinfektionsraum befindlichen Temperatur zu prüfen und diese mit dem auf dem Apparat installierten Wärmeanzeiger zu vergleichen, wurden in einem Vorversuch

6 Maximalthermometer im Innenraum des Entseuchungsapparates untergebracht, so daß alle hier auftretenden Luftschichten gemessen werden konnten.

Nach einer halbstündigen Tätigkeit zeigte das Außenthermometer 100°C , die 6 Innenthermometer wiesen als höchste Temperatur 158°C , als niedrigste 155°C auf, so daß nur eine Differenz von 3°C ermittelt wurde. Hieraus ergibt sich, daß eine gleichmäßige Wärmeverteilung in dem unbeschickten Desinfektor stattfindet, und daß der äußerlich sichtbare Wärmemesser um 50°C hinter der im Desinfektionsraum herrschenden Temperatur zurückbleibt. Zu erklären

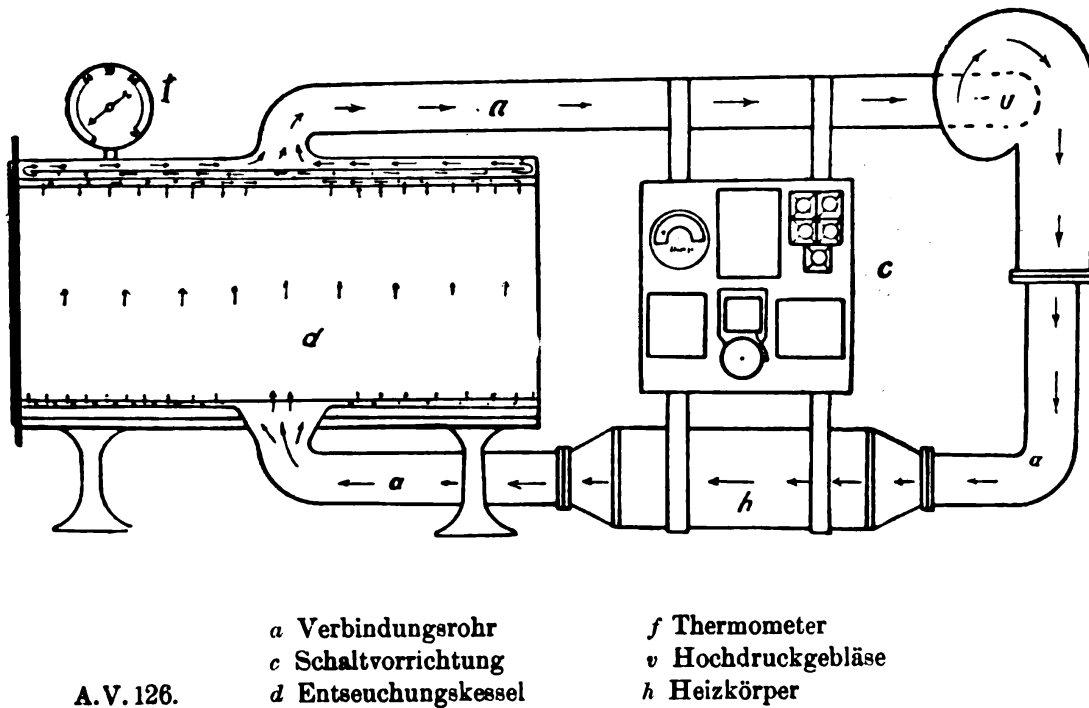


Fig. 2.

ist diese Differenz daraus, daß das eingebaute Federthermometer einen gewissen Wärmeüberschuß braucht, um den beschriebenen Mechanismus zu betätigen.

Für ein praktisches Arbeiten bietet diese Differenz keine Erschwernis, da nach den Angaben Vondrans bei einer Benutzung des Entseuchungsapparates durch Laien die Skala des Federthermometers in der Weise abgeändert werden soll, daß auf derselben nicht die Temperaturgrade angegeben, sondern diejenigen Punkte eingezeichnet werden, bei denen die einzelnen Lebewesen innerhalb einer bestimmten Zeit abgetötet sind.

1. Versuchsreihe (Entlausungsversuche).

Da sich Schweineläuse bei Vorversuchen widerstandsfähiger als Menschenläuse erwiesen hatten und letztere nicht in ausreichender Weise zu beschaffen waren, wurden die ersteren zu den Prüfungen benutzt.

Um möglichst den Verhältnissen der Praxis zu entsprechen, wurden die Parasiten in Leinenbeutel gebracht und diese an einem quer zum Desinfektionsraum aufgestellten Rahmen frei aufgehängt.

Der Desinfektionsraum war auf 60° C (Stand des Federthermometers) vorgewärmt. Dem Heißluftstrom wurden nunmehr die Läuse je 1, $\frac{1}{2}$ und $\frac{1}{4}$ Minute ausgesetzt. In allen Fällen war der Tod eingetreten; die Parasiten erwiesen sich als vollkommen eingetrocknet und besaßen beim Zerquetschen im Gegensatz zu lebenden Individuen keinerlei Körperfeuchtigkeit mehr.

2. Versuchsreihe.

Zu diesen Versuchen wurden Schweineläuse benutzt, die in einem Leinenbeutel untergebracht waren, der in einen doppelten Beutel aus dickem Billardtuch gesteckt war. Es sind mithin 3 Beutel ineinandergeschachtelt.

Bei einem Stand des Außenthermometers auf 60° C wurde das Desinfektionsmaterial 1 Minute lang erhitzt. Nach dieser Zeit waren die Läuse noch am Leben.

Bei einer Wiederholung des Versuches und Einwirkung von 3 Minuten erwiesen sich die Parasiten als abgestorben.

Die Leinen- wie Tuchbeutel hatten unter der Einwirkung der strömenden Hitze nicht gelitten.

Auf Grund dieses Ergebnisses ist anzunehmen, daß Kleiderstücke, Uniformen usw. sicher und auffallend schnell entlaust werden, wenn sie in den praktischen Bedürfnissen Rechnung tragenden Apparaten dem Heißluftstrom ausgesetzt werden.

Wenn heiße, trockene Luft bisher nicht allgemeiner zur Entseuchung infizierter Gegenstände benutzt wurde, so erklärt sich dieses daraus, daß nach den Untersuchungen von Robert Koch¹⁾ und seinen Mitarbeitern, wodurch die Grundlage für die heutige Desinfektionslehre gegeben wurde, eine Desinfektion mit trockener Hitze nur für wenig Objekte praktisch verwendbar ist, weil das Eindringen der keimtötenden Wärme unter den seinerzeit gegebenen Bedingungen, selbst bei 3—4-stündiger Einwirkung, auch durch dünne Schichten eines schlechten Wärmeleiters außerordentlich langsam vor sich geht und schließlich eine sehr stark erhitzte Luft die meisten Desinfektionsobjekte schädigt.

Bis zum heutigen Tage ist an diesen Kochschen Grundsätzen im wesentlichen nichts geändert, obgleich bereits Schumburg²⁾ darauf aufmerksam machte, daß die mechanische Bewegung der Luft das Eindringen derselben in selbst sehr dichte Objekte ganz gewaltig fördert und auf diese Weise ein Vorteil erreicht wird, der den alten Apparaten zur Heißluftdesinfektion abging.

Eine Aenderung der Desinfektionspraxis trat selbst dann nicht ein, als durch die Schumburgschen Versuche der weitere Nachweis erbracht wurde, daß eine Desinfektion mit „angefeuchteter, heißer Luft“, abgesehen von sporenhaltigem Material, alle übrigen für die Entseuchung zumeist in Frage kommenden Krankheitserreger unschädlich macht und andererseits die Mängel der Dampfdesinfektion — Unmöglichkeit einer

1) Koch, R., u. Wolffhügel, G., Untersuchungen über die Desinfektion mit heißer Luft. (Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 1. 1881. p. 301.)

2) Schumburg, Ueber die Desinfektionskraft der heißen Luft. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 21. 1902. p. 167.)

Entseuchung von Ledersachen, Schädigung bestimmter Farben — vermieden werden.

Bei meinen Versuchen wurde daher besonderer Wert darauf gelegt, das Eindringen der Hitze in schlechte Wärmeleiter, sowie die Einwirkung hoher Temperatur auf die verschiedensten Infektionsträger zu studieren und die Desinfektionskraft durch bakteriologische Prüfungen nachzuweisen.

Versuch 1.

Zu diesem Zwecke wird in die Mitte einer 20 m langen Cambricbinde (Maschinenwicklung) ein Maximalthermometer eingebracht (Fig. 3) und, um den Raum im Desinfektor auszufüllen, wurden weitere Binden peripher um die mit dem Thermometer beschickte gelegt (Fig. 4) und das ganze Bündel im Apparate untergebracht.

Dieser war auf 75° C vorgewärmt. Nach 10 Minuten zeigte das Außenthermometer 126° C, während die Innentemperatur der Binde bereits 51° C betrug. Durch diese Kontrolle fand eine Abkühlung auf 118° C statt. Trotzdem war nach weiteren 10 Minuten die Temperatur des Apparates auf 136° C, die Innentemperatur der Binde auf 65° C angestiegen. Da das Maximalthermometer zerbrach, mußte der Versuch eingestellt werden.



Fig. 3.



Fig. 4.

Versuch 2.

Bei Wiederaufnahme des beschriebenen Versuches wurden in Ermangelung von Maximalthermometern solche mit Skala bis zu 200° benutzt und diese in die Mitte einer 5 m langen Mull- sowie einer 20 m langen Cambricbinde gesteckt, die einen Durchmesser von 4 bzw. 10 cm besaßen.

In einer Zeit von 5 Minuten zeigte das Außenthermometer einen Temperaturanstieg von 68° auf 110° C an. Durch Regulierung der Wärmeerzeugung wird der Apparat bei dieser Temperatur 15 Minuten belassen.

Nach der Herausnahme der Wärmemesser aus den Binden, die sich vollkommen unverändert erwiesen, wurden in der Mullbinde 106° C, in der Cambricbinde 140° C abgelesen, während das frei im Innenraum des Desinfektors liegende Thermometer 128° C anzeigte.

Der scheinbare Widerspruch, der durch den verschiedenen Stand der Thermometer gegeben ist, erklärt sich daraus, daß nach Eröffnung des Apparates die erreichte Temperatur nicht gleichzeitig abgelesen werden konnte, und die Quecksilbersäule relativ schnell fiel, weil keine Maximalthermometer zur Verfügung standen.

Erwiesen wurde durch diesen Versuch aber trotzdem, daß in relativ kurzer Zeit selbst im Innern von dickem, schlecht wärmeleitendem Material eine hohe Wärme erzielt wird, die zur Abtötung von tierischen Parasiten wie Bakterien ausreichen dürfte, ohne daß die Desinfektionsobjekte einen Schaden erleiden.

Versuch 3.

Zur Nachprüfung und Kontrolle der vorstehenden Ergebnisse wurde Ingenieur Vondran auf eine gegebene Anregung veranlaßt, den vorstehenden Versuch unter Benutzung von Maximalthermometern zu wiederholen. Gleichzeitig wurden wiederum

Schweineläuse in Leinenbeutel in der Mitte zweier Cambricbinden untergebracht, von diesen war die eine mit Maschine gerollt, daher fest, die zweite mit der Hand gewickelt, bedeutend lockerer.

Die Anwärmung des Apparates von 27° auf 100° C (Stand des Außenthermometers) nahm 15 Minuten Zeit in Anspruch. Bei diesem Stand des Wärmezeigers wurde das Desinfektionsmaterial eingeführt und 30 Minuten lang erhitzt.

Nach Eröffnung des Apparates zeigte das im Innenraum des Desinfektors befindliche Maximalthermometer 138° C, das im Zentrum der lockeren Binde 125° C, der festgewickelten 122° C an.

Die Binden hatten durch den Heißluftstrom nicht gelitten. Die Läuse in beiden Binden waren abgetötet.

Versuch 4.

In Fortsetzung der Prüfung und in Anlehnung an die Kochschen Versuche wird eine gehäkelte, wollene Decke von 140:150 cm Länge und 14 mm Stärke dreifach gefaltet und dann gerollt, wie dieses Fig. 5 zeigt. Die so entstandene Rolle hat einen Durchmesser von 27 cm und eine Länge von 50 cm. Zwei Maximalthermometer wurden in der sechsten (Th. I) und zwölften (Th. II) Lage untergebracht. Außerdem wurde durch ein Quecksilberthermometer (Th. Q.) die Wärme der abziehenden Luft gemessen.

Nach einer Anheizung des Apparates auf 70° C (Stand des Federthermometers) wird die Decke eingeführt und 15 Minuten dem Heißluftstrom ausgesetzt.

Jetziger Stand von:

Th. F. 78° , Th. Q. 83° , Th. I 98° , Th. II 78° C.

Die Kontrolle nimmt 3 Minuten in Anspruch. Nach weiterer Einwirkung von 15 Minuten Stand von:

Th. F. 96° , Th. Q. 104° , Th. I 114° , Th. II $105,5^{\circ}$ C.

Die Kontrolle nimmt 4 Minuten in Anspruch. Nach weiterer Einwirkung von 15 Minuten Stand von:

Th. F. 100° , Th. Q. 110° , Th. I 127° , Th. II 112° C.

Die Decke hat nicht gelitten.

Die gleichfalls aus Fig. 5 ersichtliche Kamelhaardecke von 27 cm Durchmesser und 50 cm Länge wird in den auf 60° C (Stand des Federthermometers) angewärmten Apparat eingelegt. Die Verteilung der Thermometer erfolgte in ähnlicher Weise

wie beim vorbeschriebenen Versuch. Th. II kam in die Mitte, das ist die 23. Lage, Th. I in die 7. Lage, von außen gerechnet, zu liegen.

Nach weiterer 15 Minuten Stand von:

Th. F. 83° , Th. Q. 87° , Th. I 160° , Th. II 111° C.

Die Kontrolle nimmt 5 Minuten in Anspruch.

Nach weiteren 15 Minuten Einwirkungszeit zeigen an:

Th. F. 84° , Th. Q. 91° , Th. I 161° , Th. II 111° C.

Die Kontrollzeit dauert jetzt 3 Minuten.

Beim Abschluß des Versuches nach nochmals 15 Minuten wird folgender Stand abgelesen:

Th. F. 91° , Th. Q. 105° , Th. I 161° , Th. II $114,5^{\circ}$ C.

Die Decke ist vollständig unverändert geblieben.

Besonders beweiskräftig für die Unterschiede der Wärme-
fortpflanzung bei Einwirkung „ruhender“ und „stark bewegter“ Heißluft ist folgender Kontrollversuch.

Zwei Wattepakete von je 250 g (21 cm Länge und 15 cm Durchmesser) werden mit zentral eingewickelter Thermometer (Th. I bzw. Th. II) in einen Trockenschrank (Gasüberhitzerofen) gebracht und dort an einem Boden, der sich 28 cm über einem zweiten, unteren befindet, senkrecht und wagerecht zur Luftströmung im Apparat frei aufgehängt. Auf diese Weise soll der Einfluß der strahlenden Wärme, die bei einem Vorversuche die Wattebündel versengt hatte, ausgeschaltet werden. In gleicher Höhe



Fig. 5.

werden zwei Maximalthermometer im Trockenschranke befestigt, so daß sie sich 4 cm (Th. III) bzw. 6 cm (Th. IV) über dem unteren Boden und 7 cm bzw. 16 cm von der Tür entfernt befinden.

In 10 Minuten wird der Schrank auf 128° C vorgewärmt. Jetzt erfolgt die Einführung der vorbeschriebenen Gegenstände, wodurch die Temperatur innerhalb 5 Minuten bis auf 110° C zurückgeht. Von 10 zu 10 Minuten wird an einem außerhalb des Apparates sichtbaren Thermometer (Th. V) die unter der Decke des Schrankes herrschende Wärme abgelesen und eine Temperatur von 132°, 135°, 138° und 138° C bestimmt. Nach 55 Minuten langer Einwirkung der ruhenden oder doch nur infolge des Wärmeausgleiches schwach bewegten Luft zeigt sich, daß die in Watte eingewickelten Thermometer Th. I und Th. II nicht gestiegen sind, während Th. III 142° und Th. IV 153,5° C aufweisen.

Die Wattewinkel waren oberflächlich leicht gelblich verfärbt, und zwar besonders an denjenigen Partien, an denen sie der Metallwand des Schrankes am nächsten sich befunden hatten.

Nach diesem Versuche ist mit einer sehr ungleichen Wärmeverteilung im Gasüberhitzerofen zu rechnen und zugleich eine Bestätigung für die Kochschen Prüfungsergebnisse erbracht. Ein Eindringen der Wärme ist nicht erfolgt, eine Verwendung „ruhender Luft“ zur Desinfektion umfangreicher Objekte daher ausgeschlossen.

Zur Beurteilung der Einwirkung „stark bewegter Luft“ werden zwei gleich präparierte Watteballen so in den Vondran-Apparat eingeführt, daß sich eines in der Längsrichtung, eines in der Querrichtung zur Luftströmung befindet.

Bei Beginn des Versuches zeigte das Außenfederthermometer 128°, bei Beendigung 132° C an. Die Einwirkungszeit betrug 52 Minuten. Das Thermometer in dem Wappaket quer zum Desinfektionsraum zeigte 150°, das in der Watte längs zum Entseuchungsraume befindliche 157° C an. Die Watte selbst hatte keinen Schaden erlitten!

Die Ergebnisse dieser ganzen Versuchsreihe beweisen, daß sich selbst umfangreiche, schlechte Wärmeleiter, ohne dabei geschädigt zu werden, relativ schnell durchwärmen lassen, wenn sie einem Heißluftstrom von großer Geschwindigkeit ausgesetzt werden.

Um die Stärke des Luftstromes zu bestimmen, wurde ein Biramscher Windmesser in der Mitte des Entseuchungsraumes aufgestellt. Nach Einschaltung des Hochdruckgebläses konnte nunmehr eine Luftgeschwindigkeit von 2,8 m in der Sekunde abgelesen werden.

Da nach Schumburgs Untersuchungen weniger in der Einwirkung bewegter, trockener Hitze als derjenigen von bewegter „feuchter Heißluft“ das bakterizide Prinzip zu erblicken ist, war es wünschenswert, Prüfungen über den Feuchtigkeitsgehalt bei der Tätigkeit des Vondranschen Apparates anzustellen und zu ermitteln, ob die Hitze bei einem höheren Feuchtigkeitsgehalt der Luft schneller in schlechte Wärmeleiter eindringt als bei einem niederen. Obwohl diese Versuche bisher noch nicht zum Abschluß gebracht werden konnten, dürften doch folgende Ergebnisse von Bedeutung sein.

Zu Beginn der Versuche war die relative Feuchtigkeit der umgebenden Luft die gleiche wie im Desinfektionsapparate und betrug z. B. am 13. Juli 1915, gemessen mit einem Präzisionshygrometer, 57 Proz. Nachdem das Hochdruckgebläse und die Heizung angestellt und 10 Minuten in Tätigkeit erhalten wurden, war der Feuchtigkeitsgehalt auf 30 Proz. zurückgegangen. Bei längerer Inbetriebhaltung nimmt die Feuchtigkeit noch weiter ab, so beispielsweise im nachbeschriebenen Versuch 5 in 48 Minuten bis auf 27 Proz., im Versuch 6 nach 2 Stunden 11 Minuten bis auf 20 Proz., obgleich durch das wiederholte Öffnen des Desinfektionsraumes ein gewisser Ausgleich mit der umgebenden Luft stattfand.

Um die Unterschiede für das Eindringen bewegter, trockener und feuchter Luft zu ermitteln, wurden Watterpakete von 1 kg Gewicht mit einem Durchmesser von 27 cm und einer Länge von 35 cm benutzt, die fast die Hälfte des Entseuchungsraumes einnahmen.

Versuch 5.

Drei Maximalthermometer werden so in der Watterrolle (Fig. 6), die, aufgewickelt, 2,10 m mißt, verteilt, daß eines (Th. III) genau in die Mitte derselben zu liegen kommt. Je 60 bzw. 120 cm vom Anfang des Wickels entfernt sind Th. II und Th. I untergebracht.

Vor Anstellung des Apparates betrug der Feuchtigkeitsgehalt der Außenluft wie der Luft im Apparate 57 Proz. In 15 Minuten war der Entseuchungsraum auf 110° C angeheizt. Der nunmehr eingeführte Watteballen wird genau 30 Minuten bei dieser Temperatur dem Heißluftstrom ausgesetzt. Die Endtemperatur betrug 110° C.

Die im Anschluß an das Öffnen des Entseuchungsraumes ausgeführte Bestimmung der Feuchtigkeit zeigte eine Abnahme derselben auf 27 Proz.

Die in der Watte verteilten Thermometer zeigen folgenden Stand:

Th. I 151°, Th. II 144,5°, Th. III 146° C.

Nachdem durch Messung der Ausgleich der relativen Feuchtigkeit in der Außenluft und im Apparat (57 Proz.) festgestellt ist, wird unter Dampfzuleitung auf 92 Proz. angeheizt. Dem im Apparate zirkulierenden Luftstrom wurde der Wasserdampf in der Weise beigemischt, daß in einem kleinen Kessel befindliches Wasser erhitzt und unter geringem Druck der gebildete Wasserdampf in den Ventilatorraum gelangte. Unter den Voraussetzungen wie im vorigen Versuche wirkte nunmehr die „feuchte“ strömende Hitze eine halbe Stunde auf einen gleich beschaffenen Watteballen ein. Nach dieser Zeit, in welcher nach dem Stande des Federthermometers 110° C erreicht waren, hatte der Feuchtigkeitsgehalt der Luft im Apparate kaum eine Veränderung erfahren, da wieder 27,5 Proz. gemessen wurden.

An Wasserdampf wurde die aus 200 ccm Wasser erzeugte Menge verbraucht.

Der Thermometerstand ist jetzt folgender:

Th. I 149,5°, Th. II 157,5°, Th. III 151° C.

Beide Watterollen haben durch die einwirkende Hitze nicht gelitten.

Nach diesen Versuchen ist ein wesentlicher Unterschied im Eindringen der Wärme bei Einwirkung feuchter oder trockener, stark bewegter, heißer Luft nicht erwiesen. Da trotz Einleitung von Wasserdampf der relative Feuchtigkeitsgehalt der Luft bei Beendigung der zweiten Probe annähernd der gleiche wie bei der ersten ist, scheint aber das Ergebnis nicht im Widerspruch zu den Schumburgschen Ansichten zu stehen. Die sich scheinbar widersprechenden Thermometerangaben sind, abgesehen von der durch Vorversuche ermittelten ungleichmäßigen Funktion der Wärmemesser, wohl so zu deuten, daß sich die Luft den Weg des geringsten Widerstandes sucht und dieser in den Rollen ungleichmäßig verteilt ist. An den Stellen, an denen die Wärme sich staut, muß naturgemäß das Thermometer eine höhere Temperatur anzeigen.

Da durch den Heißluftstrom des Vondranschen Apparates in kurzer Zeit relativ hohe Wärmegrade selbst im Innern umfangreicher, schlecht die Wärme leitender Entseuchungsobjekte zu erzielen waren, nach dem heutigen Stande der Desinfektionslehre aber eine Temperatur bis 140° C ausreicht, um die Erreger aller bekannten Seuchen abzutöten, wurden die Versuche auch auf die Vernichtung von Krankheitskeimen ausgedehnt.



Fig. 6.

Versuch 6.

Um gleich von vornherein den Beweis zu erbringen, daß selbst die am schwersten abzutötenden Bakteriensporen im Innern schlechter Wärmeleiter vernichtet werden, ohne daß diese Schaden erleiden, wurde als Prüfungsobjekt das vorbeschriebene Wattepaketa benutzt, in dessen innerstem Wickel neben einem Maximalthermometer (Th. I) milzbrandsporenhaltige Wollstoffreste in einem Leinenbeutel untergebracht wurden.

Um ferner nähere Ermittlungen über das Eindringen der Wärme anstellen zu können, wurden zwei andere Maximalthermometer von rechts und links in die nächsten, der Mitte folgenden Wattewicklungen eingelegt, so daß ihre Quecksilberenden sich etwa im vorderen (Th. III) und hinteren (Th. II) Drittel der Rolle befanden.

Durch ein freistehendes Quecksilberthermometer (Th. Q.) wird die Wärme der abziehenden Luft ermittelt.

Auch bei diesem Versuche wurde der Feuchtigkeitsgehalt der Luft des Desinfektionsraumes bestimmt. Nach 2-stündiger Tätigkeit hatte hier die Feuchtigkeit von 48 Proz. bis auf 20 Proz. abgenommen.

Nach der Anheizung von 19 Minuten, in welcher Zeit das Federthermometer (Th. F.) von 18° auf 100° C gekommen war, wurde der Watteballen eingeführt. Jetziger Stand von Th. Q. 108°, Th. III 27°, Th. II 33°, Th. I 24° C.

Nach weiteren 19 Minuten: Th. F. 76°, Th. Q. 83°, Th. III 130°, Th. II 60° C.

Nach weiteren 21 Minuten: Th. F. 79°, Th. Q. 92°, Th. III 136°, Th. II 129° C.

Nach weiteren 18 Minuten: Th. F. 91°, Th. Q. 114°, Th. III 150°, Th. II 142° C.

Nach weiteren 19 Minuten: Th. F. 90°, Th. Q. 106°, Th. III —; Th. II 147° C.

Zu dieser Zeit wurde auch Th. I abgelesen und 150° C ermittelt. Das Maximalthermometer Th. III war durch Bruch un verwendbar geworden.

Nach weiteren 35 Minuten wurden folgende Erhebungen gemacht: Th. F. 80°, Th. Q. 95°, Th. III —, Th. II 146° und Th. I 149° C.

Der ganze Versuch nahm somit 2 Stunden und 11 Minuten in Anspruch. Hiernach war der Watteballen nicht im geringsten verändert, obwohl in seinem Innern annähernd 150° C erreicht waren.

Das milzbrandsporenhaltige Material des Ballens erwies sich als abgetötet, während die Kontrolle gutes Wachstum zeigte.

Durch eine weitere Reihe von Versuchen ist sowohl der Wert einer Bakteriendesinfektion durch den Heißluftstrom als auch die Einwirkung desselben auf die verschiedensten Infektionsträger geprüft worden. Um die Beurteilung zu erleichtern, ist zur Kontrolle gleichartiges Material zu derselben Zeit in der städtischen Desinfektionsanstalt behandelt worden.

Der Dampf-Entseuchungsapparat dieser Anstalt wurde nach Einbringung des nachbeschriebenen Materials auf die Dauer von 20 Minuten angewärmt; dann wurde durch Zulassung von direktem Dampf $\frac{3}{4}$ Stunden desinfiziert und vor Eröffnung des Apparates 20 Minuten abgekühlt.

Geprüft wurden:

- 1) Seidenfäden mit Milzbrandsporen;
- 2) Wollfäden mit Typhus;
- 3) Wollstoffstückchen mit Milzbrandsporen;
- 4) nicht infiziertes Leder;
- 5) nicht infiziertes Fell.

Das unter 1—3 genannte Material war in Reagensgläsern, die mit Wattestopfen verschlossen waren, untergebracht.

Ferner wurden mit Milzbrand infizierte Seidenfäden und Wollstoffläppchen mit Filtrierpapier umhüllt und dieses Päckchen zwischen ebenfalls zu desinfizierende Betten gelegt.

Schließlich wurden reichlich mit Watte umhüllte Reagensgläser, die, wie unter 1—3 beschrieben, beschickt waren, sowie ein Maximalthermometer im Desinfektionsapparat niedergelegt.

Das Ergebnis dieses Versuches befriedigte nur insoweit, als in sämtlichen Proben Typhus- und Milzbrandkeime abgetötet waren. Dagegen zeigte sich das Leder geschrumpft, glashart und brüchig, so daß eine Verwendbarkeit nicht mehr in Frage kam. Dieses gilt für das Fell, wenn dasselbe auch weniger stark geschrumpft und brüchig geworden war.

Zum Vergleich werden in einem Vondran-Apparat an einem mit Leinwand bespannten Rahmen die vorstehend unter 1—5 genannten Gegenstände sowie, in einem mit Wattestopfen verschlossenen Reagensglas, ein Maximalthermometer aufgehängt.

Im freien Raume in der Mitte des Apparates ist ferner ein zweites Maximalthermometer untergebracht.

Zur Anwärmung und Desinfektion wird die gleiche Zeit benutzt, die die städtische Desinfektionsanstalt zur Entseuchung benötigte. Das Außenthermometer schwankte zwischen 130—135° C; beide Maximalthermometer zeigten nach Beendigung des Versuches annähernd die gleiche Temperatur von 178° C an.

Das infektiöse Material war auch bei diesem Versuch in allen Fällen vernichtet worden. Trotz der erreichten hohen Hitze hatten andererseits Leder und Fell nicht gelitten; das Leder zeigte sich nur hinsichtlich der Farbe insofern geringgradig verändert, als es etwas dunkler geworden war.

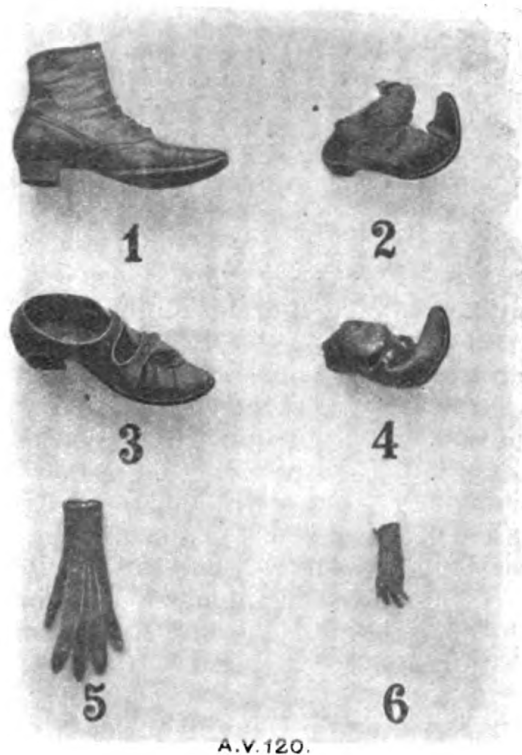
Die Leinwand des Rahmens war in unauffälliger Weise gelblich gefärbt; ein eigentliches Sengen hatte nicht stattgefunden.

Bei einer Wiederholung der vorbeschriebenen Kontroll-

versuche wurde sowohl in der städtischen Desinfektionsanstalt wie im Vondran-Apparat die Einwirkungszeit auf 35 Minuten herabgesetzt.

Während durch beide Verfahren übereinstimmend das infizierte Material abgetötet wurde, waren auch bei dieser kurzfristigen Einwirkung von Wasserdämpfen in der Desinfektionsanstalt Fell und Lederteile vollständig verdorben.

Um den Unterschied bei der Einwirkung von bewegter, heißer Luft und strömendem Wasserdampf zu zeigen, sei auf die Figur 7 verwiesen. Die mit 1, 3 und 5 bezeichneten Gegenstände sind im Vondran-Apparat, die mit 2, 4 und 6 bezeichneten in der städtischen Dampf-



A. V. 120.

Fig. 7.

Desinfektionsanstalt behandelt. In jedem Fall handelt es sich um zusammengehörige Paare.

Da unter Umständen damit zu rechnen war, daß „feuchte“ Lederwaren bei Einwirkung einer hohen Temperatur im Vondran-Apparat den gleichen Schaden wie bei der Dampf-Desinfektion erleiden könnten, wurde vor Einleitung eines weiteren Versuches ein Stiefel $\frac{1}{4}$ Stunde in Wasser gelegt und dann unmittelbar darauf in den auf 105° vorgewärmten Desinfektor gebracht. Nach 8 Minuten waren dem Stand des Außenthermometers zufolge 120° C erreicht. Bei dieser Temperatur wurde durch Regulierung der Wärme der Stiefel noch weitere 7 Minuten gehalten. Ein Maximalthermometer stand bei diesem Versuch nicht zur Verfügung, doch ist schätzungsweise eine Innentemperatur von mindestens $150-170^{\circ}$ C anzunehmen. Eine Veränderung des Leders hatte nicht stattgefunden. Diese Feststellung, die für die Desinfektionspraxis von weittragender Bedeutung ist, dürfte wohl so zu erklären sein, daß der Wassergehalt des zu entseuchenden Materials diesem sehr schnell fast vollständig entzogen wird und nunmehr ausschließlich ein trockener Heißluftstrom einwirken kann.

Zusammenfassung.

Aus den angestellten Versuchen geht hervor, daß es, im Gegensatz zu ruhender oder schwach bewegter, trockener oder feuchter, heißer Luft, mit stark bewegter Heißluft gelingt, eine praktisch verwertbare Desinfektion zu erreichen.

Am leichtesten werden höher organisierte Lebewesen, wie tierische Parasiten, abgetötet, die durch die strömende Luft in wenigen Minuten vollständig ausgetrocknet werden. Kleidungsstücke jeder Art lassen sich daher zum Beispiel in kürzester Zeit entlausen oder von Motten befreien, ohne daß die Gegenstände den geringsten Schaden erleiden, da die Einwirkung des Heißluftstromes bis zu einer gewissen, für die Desinfektion ausreichenden Temperatur Veränderungen nicht hervorruft. Da selbst die Form nicht leidet, können Ueberzeug, Uniformstücke usw. sofort wieder in Benutzung genommen werden, ohne vorher in eine Schneiderwerkstatt oder Plättanstalt zu wandern. Im Gegensatz zu einer Wasserdampf-Desinfektion gewährt die Entseuchung mit strömender Heißluft aber den ganz besonderen Vorteil, daß Ledersachen nicht angegriffen werden. Dieses hat vor allem eine praktische Bedeutung für die Mottenbekämpfung und die Entlausung von mit Leder besetzten Kleidungsstücken (Reithosen, lederne Handschuhe, Schirmmützen, Helme, Brieffaschen, Geldbeutel, Stiefeln, Pantoffeln usw.) und allen Pelzgegenständen (Mützen, Handwärmer, Fußtaschen, Geh- und Fahrpelze, Pelzbesätze).

Da durch die starke Luftströmung ein Eindringen der Hitze in die Tiefe schlechter Wärmeleiter ermöglicht und daher auch im Innern derselben nach relativ kurzer Zeit eine hohe Temperatur erreicht wird, so läßt sich die stark bewegte Heißluft auch zur Bakteriendesinfektion verwenden.

Insbesondere gilt dieses für die Abtötung von nicht sporenhaltigen Ansteckungsstoffen, da diese eine verhältnismäßig kurz andauernde Temperatur von 100° C nicht überstehen.

Da nun die meisten Krankheitserreger, die unter normalen Verhältnissen zu einer Desinfektion Veranlassung geben, keine widerstandsfähigen Dauersporen bilden, z. B. die Erreger von Typhus, Cholera, Pest, Influenza, Diphtherie, Tuberkulose, Rotz, Schweineseuche, Rotlauf der Schweine, Geflügelcholera, der Eiterungen, so wird man gerade bei Vernichtung der am häufigsten vorhandenen Seuchenerreger durch den Vondran-Apparat die besten Erfolge erzielen können. Daß jedoch selbst eine Abtötung von Sporen, der Dauerformen der Bakterien, gelingt, ist durch die Milzbranddesinfektionsversuche erwiesen.

Die Verwendungsmöglichkeit des Vondran-Apparates für praktische Zwecke dürfte außerordentlich vielseitig sein, da er im Gegensatz zu Wasserdampf-Desinfektionsapparaten viel handlicher und nach Angabe von Vondran vor allem viel preiswerter ist. Letzteres soll sich sowohl auf den Anschaffungspreis als besonders auf die Betriebskosten erstrecken. Hierzu kommt noch, daß sich bereits vorhandene Entseuchungsanlagen leicht zur Verwendung bewegter Heißluft umändern lassen, und daher aller der Vorteile teilhaftig gemacht werden können, die bisher dem Desinfektionsverfahren mit Wasserdampf bzw. „ruhender“ Heißluft abgingen.

Neue Apparate lassen sich ohne Schwierigkeit überall aufstellen und können sogar den Truppenbewegungen bequem angepaßt werden. Auch dort, wo keine Elektrizität vorhanden ist, kann die Desinfektion mit dem Vondran-Apparat ausgeführt werden. Für diesen Fall ist als Antrieb des Hochdruckgebläses ein kleiner Explosions-Petroleum- oder -Rohöl-Motor in Aussicht genommen, während die Erwärmung der strömenden Luft durch einen eingebauten Kohlen- oder Holzfeuerofen bewerkstelligt wird.

Ist eine ständige schnelle Beweglichkeit des Entseuchungsapparates erforderlich, könnte derselbe auf einem Auto montiert und der Automotormotor selbst sowohl zum Antrieb des Hochdruckgebläses als Erzeugung der erforderlichen Wärme verwendet werden.

Ehe ich meine Ausführungen beende, möchte ich auch bei dieser Gelegenheit Frl. E. Wiegert, der langjährigen Assistentin des Instituts, für die fleißige Unterstützung bei der Vornahme sämtlicher bakteriologischen Prüfungen meinen Dank aussprechen.

In gleicher Weise danke ich Herrn Ingenieur Vondran, daß er allen meinen im Laufe der experimentellen Versuche gegebenen Anregungen und Vorschlägen zur Vervollständigung seines Apparates stets bereitwilligst gefolgt ist und sowohl sein großes technisches Wissen als auch die sämtlichen Hilfsmittel seiner Fabrik in den Dienst der guten Sache gestellt hat.

Nachdruck verboten.

Further Researches on combined Vaccines.

By **Aldo Castellani, M.D.**,

Director of the Bacteriological Institute and Clinic for Tropical Diseases,
Colombo (Ceylon).

Since 1905 I have prepared and used in man several combined vaccines, basing their preparation on the experimental work I carried out in Bonn in Professor Kruse's Laboratory during the years 1901—1902.

I succeeded then in demonstrating that an animal (rabbit) inoculated with two different bacteria, produced, at the same time, agglutinins and immune bodies for both; and that provided a sufficient minimum quantity had been inoculated, the amount of agglutinins and immune bodies elaborated for each germ was about the same as in animals inoculated with one germ only. Moreover I demonstrated that even inoculating an animal (rabbit) with three different species of germs (*B. typhosus* B, *B. pseudodysentericus* No. 1 [Kruse] strain of *B. coli communis*), the amount of agglutinins and immune bodies elaborated for each germ is nearly the same as in animals respectively inoculated with one species only. In rabbits I found that by inoculating more than three species of micro-organisms no good results were obtained, but, in view of my recent work, if I had used animals of larger size, I might, and probably should, have found that good results can be obtained even using more than three species. I showed that when immunization is obtained by a single inoculation, provided the minimum dose sufficient to obtain the maximum immunization be given, the amount of agglutinins and immune bodies elaborated by the inoculated animals is not in proportion to the amount of cultures injected. A series of rabbits inoculated with 2 c.c. of typhoid culture will give the same average agglutination limit, and the same amount of immune bodies, as a series of rabbits inoculated with 4 c.c.

Combined "Typhoid + Paratyphoid A + Paratyphoid B" Vaccine.

Since 1905 this vaccine has been extensively used by me with good results. Having already published several papers on it, among them two in this Journal (Centralbl. f. Bakt. 1909 and 1913) I will limit myself to state here that my further investigation has confirmed my previous work, viz. that this combined vaccine is harmless; that it gives a certain amount of protection for the three diseases; that it is advisable to use it always instead of the simple typhoid vaccine in countries where paratyphoid A and B occur besides typhoid.

The advisability of using such a vaccine is shown by the fact that I have seen two cases of persons inoculated with simple typhoid vaccine before sailing from Europe, developing paratyphoid A three months after landing in Ceylon; the diagnosis being made by hæmoculture. Moreover cases of mixed infection, typhoid and paratyphoid A or paratyphoid B do occur, though not very frequently. As a matter of fact, I have recently observed a case — which must be extremely rare — of contemporaneous triple infection: typhoid, paratyphoid A and paratyphoid B. I hope soon to publish this case in detail, but I do not think there can be any doubt about the diagnosis as the stools contained the three germs,

the blood gave a strong agglutination for all three, and the absorption test showed that there were present specific agglutinins for each germ.

In previous papers I have given in detail the technique for the preparation of such vaccine: it suffices here to state that the vaccine consists of an emulsion of typhoid and paratyphoid A and B bacilli, killed by heat (53° C) and standardized so that 1 c. c. contains approximately 500 millions of typhoid bacilli and 250 millions each of paratyphoid A and B. The vaccine may be prepared also without heating, by emulsions from agar cultures in 0.75% salt solution to which 0.5% of carbolic acid has been added: the presence of 0.5% carbolic is sufficient to kill the germs. For the first dose 0.5 to 0.6 c. c. should be injected, with aseptic precautions, under the skin—preferably in the arm. The inoculation is followed after 3 to 4 hours by some pain and tenderness at the site of injection, and a few hours later by fever (100 or 101° F) and general malaise. All these symptoms have usually disappeared in 36 hours. A second injection of from 1 to 2 c. c. should be given 7 to 10 clear days after the first inoculation. It is often followed by less local reaction. A third injection (the same dose as the second) may be given with advantage after a further interval of 7 to 10 days.

Combined "Cholera + Plague" Vaccine.

On this combined vaccine I will say here only a few words, having already published papers on its elsewhere. Given the presence in Ceylon at the same time of both cholera and plague, it occurred to me to prepare a combined cholera + plague vaccine, which should contemporarily give a certain amount of immunization for both diseases. The combined cholera-plague vaccine I prepare consists of an emulsion in carbolized ($\frac{1}{2}\%$) normal salt solution (0.75%) of plague bacilli and cholera vibrios from 3 days old cultures, standardized so that 1 c. c. of the emulsion contains approximately one thousand millions of plague bacilli and two thousand millions of cholera vibrios. Of this vaccine — in adults — 1 c. c. is inoculated the first time subcutaneously in the arm, and 2 c. c. the second time, a week after the first injection. To date 250 individuals have been so inoculated. I can confirm the conclusion I came to in my previous papers, viz:

1. The inoculation of this combined vaccine in the lower animals induces a production of protective substances for the plague bacillus and the cholera vibrio.

2. The inoculation of such vaccine in human beings is harmless, the reaction is rather less marked than after the inoculation of Haffkine's, but severer than after Lustig's vaccine.

3. A small amount of agglutinins both for plague and cholera appear in the blood of most of the inoculated persons. The agglutination for the plague bacillus is generally very slight (1 in 10, 1 in 20, or nihil), but this is also the case when using a simple plague vaccine such as Haffkine's or Lustig's. The agglutination for cholera varies between the limits 1 in 20 and 1 in 60 (rarely higher) and is practically the same as in individuals inoculated with cholera vaccine only. (See Tables.)

Combined "Typhoid + Paratyphoid A + Paratyphoid B + Plague + Cholera" Vaccine.

This combined "five diseases" vaccine consists of a carbolized emulsion of typhoid, paratyphoid A and paratyphoid B bacilli, cholera vibrios, and plague bacilli. The technique of its preparation is as follows:

Agar cultures 24 hours old are used in the case of typhoid, paratyphoid A, paratyphoid B, and cholera; agar cultures 3 days old are used in the case of plague, as this germ grows slowly. The growth of the typhoid agar cultures is washed off with 0.75% salt solution containing 0.5% carbolic acid; is stored at room temperature 18–24 hours and then tested for sterility and standardized in such a way that 1 c.c. of this carbolized typhoid vaccine will contain approximately one thousand millions of typhoid bacilli. The same procedure is carried out with paratyphoid A, paratyphoid B and plague: each of these carbolized vaccines will contain therefore one thousand millions bacilli per cubic centimetre. The same technique is used to prepare the cholera vaccine, but this vaccine is standardized in such a way as to make it contain four thousand millions per c. c.

After having prepared, standardized, and tested for sterility these five different vaccines, they are mixed together in the following proportions:

Cholera vaccine	2 parts	2 c. c.
Plague "	2 "	2 c. c.
Typhoid "	2 "	2 c. c.
Paratyphoid A vaccine	1 "	1 c. c.
" B "	1 "	1 c. c.

The mixed vaccine will therefore contain per cubic centimetre:

Cholera	1000	millions
Plague	250	"
Typhoid	250	"
Paratyphoid A	125	"
" B	125	"

Method of vaccination.

The inoculation is made subcutaneously in the arm, in the same manner as when using simple typhoid vaccine. In strong adults I give 1 c. c. the first time, and 2 c. c. a week later; in adults who do not appear to be very strong, or in individuals who fear the reaction as also in women, I give half doses, viz. $\frac{1}{2}$ c. c. the first time and 1 c. c. the second time. Children between 10 and 16 years receive one third the adult dose. Children under 10 years of age I have not yet inoculated. The inoculation of the vaccine is followed in a few hours by a local reaction (redness and some infiltration) and general reaction (fever, malais, rheumatoid pains) which generally does not incapacitate one for work for more than 24 hours. The reaction may be said to be as a rule more severe than after the inoculation of simple typhoid, or the mixed typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B vaccine; a little more severe also than after the inoculation with Lustig's simple plague vaccine; but certainly somewhat less severe, in my experience, than after using Haffkine's simple plague vaccine. It is to be noted that occasionally one comes across individuals who do not show, practically, any reaction.

Innocuity of the combined "five diseases" vaccine.

Four persons who have volunteered have been inoculated nine times, at a week's interval, with 1 c. c. the first time, and 2 c. c. on all the following occasions. They have remained in good general health though two have had somewhat severe general and local reactions. One person who also volunteered, has been inoculated with a double strength mixed vaccine four times — a vaccine which per c. c. contained double the

amount of germs than the one generally used. Apart from a more several local reaction no untoward effects were noted.

Immunization obtained in man by the combined "five diseases" vaccine.

Lack of time has prevented the study of the amount of all protective substances produced in inoculated individuals. The investigation therefore has been limited to studying the amount of agglutinins produced in individuals inoculated with the mixed "five diseases" vaccine, and comparing the results with those noted in individuals inoculated with simple "one disease" vaccines. Of course, it is well known, that one cannot gauge the actual immunization obtained, by simply studying the agglutination, but it is generally admitted that to a certain extent agglutination is a rough index for immunization.

The results are collected in the following tables:

Table I.
Combined "typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B + cholera + plague vaccine"
(two inoculations: 1 c.c. the first, 2 c.c. the second).

Name	Blood tested against	Limits of agglutination weeks after 1st inoculation									
		1	2	4	5	7	8	9	10	11	
Kuppaswamy	B. typhosus	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{1200}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{40}$	
	B. paratyph. A	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{250}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$	
	B. " B	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{250}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	
	V. cholerae	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	0	0	0	0	0	0	
	B. pestis	0	$\frac{1}{20}$	0	0	0	0	0	0	0	
Periaswamy	B. typhosus	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{40}$	
	B. paratyph. A	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{250}$	$\frac{1}{250}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	
	B. " B	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{20}$	0	
	V. cholerae	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$	0	0	
	B. pestis	0	0	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	0	0	0	0	0	

Table II.
Vaccination with combined plague + cholera vaccine (2 inoculations: 1 c.c. the first, 2 c.c. the second).

Individuals inoculated	Blood tested against	Limits of agglutination weeks after 1st inoculation						
		1	2	3	4	5	6	7
Tamil cooly No. 3	B. pestis	0	1/20	0	0	—	0	0
	Vibrio cholerae	0	1/40	1/40	0	—	0	0
" " " 4	B. pestis	0	1/20	1/20	0	0	0	0
	Vibrio cholerae	1/20	1/40	1/80	1/60	0	1/20	0
" " " 5	B. pestis	0	0	0	0	0	0	0
	Vibrio cholerae	0	1/20	1/80	1/60	1/20	0	1/20

Table III.
Vaccination with simple plague vaccine (Haffkine — one inoculation of 4 c.c.).

Individuals inoculated	Limits of agglutination for B. pestis weeks after 1st inoculation						
	1	2	3	4	5	6	7
Tamil cooly No. 6	0	1/20	1/20	0	—	—	0
Singhalese No. 1	0	0	0	—	—	—	0

Table IV.
Vaccination with simple plague vaccine (Lustig — 3 inoculations).

Individuals inoculated	Limits of agglutination for <i>B. pestis</i> number of weeks after 1st inoculation					
	1	2	3	4	5	6
Tamil cooly No. 7	0	0	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	—	0
" " " 8	0	$\frac{1}{20}$	0	$\frac{1}{20}$	0	0
" " " 9	0	0	0	—	—	0

Table V.
Vaccination with simple plague vaccine (carbolyzed — two inoculations: 1 c. c. the first, 2 c. c. the second).

Individuals inoculated	Limits of agglutination for <i>B. pestis</i> number of weeks after 1st inoculation						
	1	2	3	4	5	6	7
Singhalese No. 2	0	0	—	—	0	—	0
Tamil cooly No. 10	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	0	$\frac{1}{20}$	0	0

Table VI.
Vaccination with simple carbolyzed cholera vaccine (two inoculations: 1 c. c. the first, 2 c. c. the second).

Individuals inoculated	Limits of agglutination weeks after 1st inoculation					
	1	2	3	4	5	6
Tamil cooly No. 11	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	0	0
" " " 12	0	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{40}$	0	$\frac{1}{20}$	0
" " " 13	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{80}$	—	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{20}$	0

Table VII.
Vaccination with simple typhoid vaccines (two inoculations: 0.6 c. c. the first, 1.2 c. c. the second).

Individuals inoculated	Limits of agglutination for <i>B. typhosus</i> weeks after 1st inoculation										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Singhalese No. 3 (carbolyzed vaccine)	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{200}$	—	$\frac{1}{100}$	—	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{60}$
Singhalese (ordinary heated vaccine)	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{150}$	—	$\frac{1}{60}$

Table VIII.
Vaccination with simple paratyphoid A vaccine (two inoculations: $\frac{1}{2}$ c. c. the first, 1 c. c. the second).

Individuals inoculated	Limits of agglutination for <i>B. paratyphosus</i> A weeks after inoculation										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Tamil (Singho)	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{40}$	—	$\frac{1}{40}$
Singhalese (Wellan)	0	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	—	$\frac{1}{60}$

Table IX.

Vaccination with simple paratyphoid B vaccines (two inoculations: 0.6 c.c. the first, 1.2 c.c. the second).

Individuals inoculated	Limits of agglutinations for <i>B. paratyphosus</i> B weeks after 1st inoculation										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Singhalese Asson	0	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	—	$\frac{1}{20}$
Tamil Karuppen	0	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	0	—	0

From the above Tables it will be seen that the two individuals inoculated with the combined "five diseases" vaccine, produced agglutinins in large amount for typhoid, paratyphoid A and paratyphoid B; in small amount for cholera, and in very small amount for plague.

If we compare these results with those obtained in individuals inoculated with simple typhoid vaccine, paratyphoid A vaccine, paratyphoid B vaccine, cholera vaccine, and plague vaccine, we see that the amount of agglutinins produced in the latter is not distinctly larger.

In the control individuals inoculated with simple typhoid, paratyphoid A, paratyphoid B vaccines, the amount of agglutinins for such germs does not seem to be much higher; in individuals inoculated with simple cholera vaccine the amount of agglutinins present is small; in individuals inoculated with simple plague vaccine, whatever kind of vaccine is used (carbolized, Lustig's or Haffkine's), it is also very small or absent.

Combined "Typhoid + Malta Fever" Vaccine.

This vaccine consists of an emulsion in carbolized ($\frac{1}{2}\%$) normal salt solution (0.75%) of typhoid bacillus and *Micrococcus melitensis*. Agar cultures 24 hours old are used in the case of typhoid, agar cultures 3 days old in the case of Malta fever. The growth of the typhoid agar cultures is washed off with 0.75% salt solution containing 0.5% carbolic acid, is stored at room temperature 18—24 hours and then tested for sterility and standardized in such a way that 1 c.c. will contain approximately 1000 millions typhoid bacilli. The same technique is used to prepare the Malta fever vaccine, but such vaccine is standardized so as to contain 4000 millions per c.c. These two vaccines are mixed together in equal parts: the combined vaccine will contain per c.c. five hundred millions typhoid, and two thousand millions Malta fever.

I have inoculated this vaccine in eleven individuals with no untoward symptoms. The reaction is hardly more severe than after the inoculation of simple vaccine. I have not studied the agglutination week by week as I have done in other combined vaccines, but I may say that the blood of inoculated individuals develops a large amount of agglutinins for the typhoid bacillus and a certain amount of agglutinins for *Micrococcus melitensis*.

Combined "Typhoid + Paratyphoid A + Paratyphoid B + Malta Fever" Vaccine.

This vaccine consists of an emulsion in carbolized ($\frac{1}{2}\%$) salt solution (0.75%) of typhoid, paratyphoid A, paratyphoid B bacilli and *Micrococcus melitensis*. Agar cultures 24 hours old are used in the case of the first three germs mentioned; agar cultures three days old of Malta fever. The growth of the typhoid agar cultures is washed off with 0.75%

salt solution containing 0.5% carbolic acid, is stored at room temperature 18–24 hours, and then tested for sterility and standardized in such a way that 1 c. c. will contain approximately two thousand millions typhoid bacilli. The same technique is used to prepare the paratyphoid A and paratyphoid B vaccine, each of them being standardized to contain one thousands million. The same technique is used to prepare the Malta fever vaccine, but this vaccine is standardized in such a way as to contain four thousand millions per c. c.

After having standardized and tested for sterility these four different vaccines, they are mixed together in equal parts. Each c. c. of the mixture will contain the following:

Typhoid	500 millions
Paratyphoid A	250 "
B	250 "
Malta "fever	1000 "

Of this vaccine 0.5 to 0.6 c. c. is injected subcutaneously in the arm the first time, and 1 c. c. to 1.2 c. c. the second time, a week later.

I have used this vaccine in 230 persons and I may say that the reaction was apparently not distinctly higher than after the simple typhoid or mixed paratyphoid A and paratyphoid B vaccines. The blood of all inoculated persons developed a large amount of agglutinins for typhoid, paratyphoid B, and paratyphoid A, and a certain amount for Malta fever. The amount of agglutinins produced for each germ was apparently not distinctly less than in control individuals inoculated with simple "one disease" vaccines, as may be seen from annexed tables:

Table X.

Vaccination with "typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B + Malta fever" combined vaccine (two inoculations: 0.5 to 0.6 c. c. the first time, 1 c. c. to 1.2 c. c. the second time).

Inoculated individuals	Agglutination for:	Agglutination limits weeks after 1st injection							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Hamy	B. typhosus	0	1/400	1/400	1/400	1/200	1/200	1/150	1/150
	B. paratyphosus A	0	1/300	1/150	1/150	1/150	1/100	1/100	1/100
	B. " B	0	1/300	1/100	1/100	1/100	1/80	1/80	1/80
	Microc. melitensis	0	1/20	1/40	1/100	1/150	1/80	1/100	1/100
Wellan No. II	B. typhosus	0	1/600	1/500	1/500	1/300	1/200	1/200	1/150
	B. paratyphosus A	0	1/300	1/200	1/100	1/100	1/80	1/80	1/60
	B. " B	0	1/200	1/150	1/100	1/100	1/100	1/80	1/80
	Microc. melitensis	0	1/20	1/80	1/80	1/100	1/100	1/80	1/80

Table XI.

Vaccination with simple Malta fever vaccine (two inoculations: 0.6 c. c. the first time, 1.2 c. c. the second).

Names of inoculated individuals	Agglutination limits for Microc. melitensis weeks after 1st injection							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Suppen (Tamil)	0	1/20?	1/40	1/80	1/80	1/80	1/60	1/60
Mr. S.... (Eur.)	0	0	1/40	1/120	1/150	1/100	1/80	1/100

For typhoid, paratyphoid A and paratyphoid B agglutinins in individuals inoculated with simple typhoid, paratyphoid A and paratyphoid B vaccines see Tables VII, VIII, IX.

Combined "Typhoid + Paratyphoid A + Paratyphoid B + B. columbensis + B. asiaticus" vaccine.

These being in Ceylon cases of fever due to *B. columbensis* and *B. asiaticus*, I have prepared a combined vaccine containing also these two germs. This vaccine consists of an emulsion in carbolized ($\frac{1}{2}\%$) salt solution, (0.75%) of typhoid, paratyphoid A, paratyphoid B bacilli, *B. asiaticus* and *B. columbensis*. The individual carbolized vaccines are prepared as stated in previous paragraphs and standardized as follows:

Typhoid	2500	millions	per c. c.
Paratyphoid A	1000	"	" "
B	1000	"	" "
<i>B. asiaticus</i>	1000	"	" "
<i>B. columbensis</i>	1000	"	" "

These vaccines are mixed together in equal parts so that each c. c. of the combined vaccine will approximately contain:

Typhoid	500	millions
Paratyphoid A	200	"
B	200	"
<i>B. asiaticus</i>	200	"
<i>B. columbensis</i>	200	"

Of this combined vaccine 0.5 to 0.6 c. c. is inoculated the first time and 1 c. c. to 1.2 c. c. the second time, a week later. The reaction is not much more severe than after a simple typhoid or typhoid-paratyphoid vaccination. The inoculated individual develops a large amount of agglutinins for typhoid, paratyphoid A and paratyphoid B, practically in the same amount as in control individuals inoculated with simple "one disease" vaccines. Agglutinins for *B. asiaticus* and *B. columbensis* are also present, but in a certain number of cases soon disappear; this however seems to be also the case in individuals inoculated with simple *B. asiaticus* or *B. columbensis* vaccines.

Combined "Typhoid + Paratyphoid A + Paratyphoid B + Micrococcus melitensis + B. columbensis + B. asiaticus Vaccine.

This vaccine consists of an emulsion in carbolized ($\frac{1}{2}\%$) salt solution (0.75%) of typhoid bacilli, paratyphoid A bacilli, paratyphoid B bacilli, *B. asiaticus*, *B. columbensis*, Malta fever Micrococcus.

The individual vaccines are prepared as described in previous paragraphs and standardized as follows, per c. c.:

Typhoid	2400	millions
Paratyphoid A	1000	"
B	1000	"
<i>B. asiaticus</i>	1000	"
<i>B. columbensis</i>	1000	"
Malta fever	4000	"

These vaccines are mixed in equal parts. This combined "six diseases" vaccine will therefore contain per c. c.:

Typhoid	400	millions	
Paratyphoid A	166	"	(about)
B	166	"	(")
<i>B. asiaticus</i>	166	"	(")
<i>B. columbensis</i>	166	"	(")
Malta fever	666	"	(")

I have inoculated nineteen persons with the combined vaccine: 0.5 to 0.6 c. c. the first time, and 1 to 1.2 c. c. the second time, a week later.

The reaction is very slightly more severe than after a simple typhoid vaccination. The inoculated individuals have developed a large amount of agglutinins for typhoid, paratyphoid A and paratyphoid B; in fact the very large amount of agglutinins for *B. paratyphosus* A and B is indeed remarkable being higher than in control individuals a certain amount also for Malta fever. Agglutinins for *B. asiaticus* and *B. columbensis* were produced in fairly large quantities, but soon disappeared; this however is apparently the case also with control individuals inoculated with simple *B. columbensis* and *B. asiaticus* vaccines.

Table XII.

Vaccination with "typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B + Malta fever + *B. columbensis* + *B. asiaticus*" vaccine (two injections: 0.6 c.c. the first time, 1.2 c.c. the second time).

Names of inoculated individuals	Agglutination for	Agglutination limits weeks after 1st inoculation					
		1	2	3	4	5	6
Subetheris (Singhalese)	Typhoid	0	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{200}$
	Paratyphoid A	0	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{300}$
	" B	0	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{200}$
	Malta fever	0	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$
	<i>B. columbensis</i>	0	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{40}$	0
	<i>B. asiaticus</i>	0	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$
Mr. D.... (European)	Typhoid	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{500}$	—	—	$\frac{1}{400}$
	Paratyphoid A	0	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{400}$	—	—	$\frac{1}{200}$
	" B	0	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{400}$	—	—	$\frac{1}{200}$
	Malta fever	0	0	$\frac{1}{20}$	—	—	$\frac{1}{80}$
	<i>B. columbensis</i>	0	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{40}$	—	—	0
	<i>B. asiaticus</i>	0	$\frac{1}{300}$	$\frac{1}{200}$	—	—	$\frac{1}{80}$

Table XIII.

Vaccination with simple *B. columbensis* vaccine (two injections, 0.6 c.c. the first time, 1.2 c.c. the second).

Inoculated individuals	Agglutination limits for <i>B. columbensis</i> weeks after 1st injection					
	1	2	3	4	5	6
Tamil cooly	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{20}$
Tamil cooly	0	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{40}$	0

Table XIV.

Vaccination with simple *B. asiaticus* vaccine (two inoculations, 0.6 c.c. the first time, 1.2 c.c. the second).

Inoculated individual	Agglutination limits for <i>B. asiaticus</i> weeks after 1st injection					
	1	2	3	4	5	6
Tamil cooly	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{150}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$

For agglutinins present in individuals inoculated with simple Malta fever vaccine, typhoid vaccine, paratyphoid A vaccine and paratyphoid B vaccine see Tables XI, VII, VIII, IX.

Combined "Dysentery + Typhoid + Paratyphoid" Vaccine.

For the preparation of this combined vaccine, broth cultures should never be used, as broth cultures of dysentery bacteria give rise to an extremely painful infiltration at the site of the inoculation.

Pepton-water cultures should be used, or better emulsions in salt solution, such as I use at the present time. The combined vaccine I now prepare consists of an emulsion of Shiga-Kruse, Hys. Y bacillus, original Flexner bacillus, fairly common in Ceylon, a Flexner-like bacillus No. 1, isolated in Ceylon, a Flexner-like bacillus No. 2, also isolated in Ceylon, *Bacillus typhosus*, *Bacillus paratyphosus* A and *Bacillus paratyphosus* B. The individual vaccines are prepared by using emulsions from 24 hours agar cultures in normal salt solution (0.75%) to which 0.5% of carbolic acid has been added.

The individual vaccines are standardized as follows:

Typhoid bacillus	4000 millions	Flexner bacillus	1000 millions
Paratyphoid A bacillus	1000 "	Hys Y bacillus	1000 "
" B bacillus	1000 "	Flexner-like No. 1	1000 "
Shiga-Kruse bacillus	1000 "	Flexner-like No. 2	1000 "

These vaccines are mixed in equal parts so that 1 c.c. of the mixed vaccine will contain:

Typhoid	200 millions	Flexner	125 millions
Paratyphoid A	125 "	Hys Y	125 "
" B	125 "	Flexner-like No. 1	125 "
Shiga-Kruse	125 "	Flexner-like No. 2	125 "

Of this vaccine 0.5 to 0.6 is given hyperdermically the first time and 1 c.c. to 1.2 c.c. after a week. The reaction is somewhat more severe as a rule than after the typhoid-paratyphoid vaccine. As regards the amount of protective substances induced by such vaccine, very little can be said, as the agglutination for germs of the dysentery group was generally slight, the agglutination limit seldom being higher than 1 in 40; it was also very irregular and inconstant, but the same may be said of individuals inoculated with simple Shiga-Kruse, Flexner etc. vaccines. Typhoid, paratyphoid A and paratyphoid B agglutinins, on the other hand, are produced in fair amount, though, as a rule, distinctly less than in control individuals inoculated with simple typhoid, paratyphoid A and paratyphoid B vaccines; possibly the amount of bacteria inoculated for each species falls below the necessary minimum.

Resume and Conclusions.

1. The preparation of combined vaccines is based, I think I may venture to say, on the experimental work I carried out in 1901—1902 in Professor Kruse's Institute, when I demonstrated that inoculating an animal with three species of bacteria — provided a sufficient minimum quantity was given — agglutinins and immune bodies for all three germs were elaborated, the amount of agglutinins and immune bodies elaborated for each germ being nearly the same as in animals respectively inoculated with only one species.

2. I have prepared and used in man the following vaccines:

- 1) Typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B.
- 2) Typhoid + Malta fever.

- 3) Typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B + Malta fever.
- 4) Typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B + *B. asiaticus* + *B. columbensis*.
- 5) Typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B + *B. asiaticus* + *B. columbensis* + Malta fever.
- 6) Typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B + dysentery Kruse-Shiga + dysentery Flexner + dysentery Hys Y + dysentery Flexner-like No. 1 + dysentery Flexner-like No. 2.
- 7) Cholera + plague.
- 8) Cholera + plague + typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B¹⁾.

3. The inoculation in man of the above combined vaccines is harmless. The reaction is not severe, with the exception of the "cholera + plague" and "cholera + plague + typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B" vaccines, when the reaction is severe; though apparently less so than after Haffkine's simple plague vaccine.

4. The combined vaccines I am now using consist of carbolized emulsions of agar cultures in normal salt solutions without heating. These emulsions seem to give a less painful local reaction than broth cultures killed by heat. The presence of 0.5% carbolic acid is sufficient to kill the germs. The "typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B" vaccine is however also prepared by heating broth cultures at 53.

5. The individuals inoculated with the above mentioned combined vaccines generally produce agglutinins for each species of bacteria, and the amount is not much less than control individuals inoculated with simple "one disease" vaccines. The only exception — though only to a certain extent — seems to have been in the case of the typhoid-dysentery vaccines.

6. Combined vaccines, when efficient, are of practical advantage, saving a great deal of time, and rendering possible a contemporaneous vaccination for several different maladies.

References to previous papers on mixed vaccines.

- Castellani, Zeitschr. f. Hyg. 1902.
 —, Ceylon Med. Reports. 1904.
 —, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1909.
 —, Transact. Bombay Med. Congress. 1910.
 —, Transact. Soc. Trop. Med. 1912.
 —, Lancet; British Med. Journal; Centralbl. f. Bakt. 1913.
 —, Journal Ceylon Branch Brit. Med. Ass. 1914.

1) The "typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B" vaccine, and the "typhoid + paratyphoid A + paratyphoid B + Malta fever" vaccines are now prepared, according to my instructions, by the Serum Institute of Berne (Switzerland).

Nachdruck verboten.

Studien über Pneumokokken-Immunität.

II. Mitteilung.

Immunserum und Leukocyten.

Von J. Tillgren.

Orientierende Versuche.

Gleichzeitig mit den Leukocytenversuchen in der vorhergehenden I. Mitteilung fing ich an, Kaninchen mit hochvirulenten Pneumokokken zu immunisieren, und zwar hauptsächlich mit subkutanen Injektionen. Dazu wurden verwendet teils 1) die überlebenden Tiere von den Leukocytenversuchen, teils 2) Kaninchen, die zuerst mit wärmebehandelten Pneumokokken injiziert wurden.

1) So wurde Kaninchen 61, das in seiner Eigenschaft als Kontrolle in der Leukocytenserie 12 zuerst $\frac{1}{1200000}$ ccm Kultur mit 8 Tierpassagen erhielt, das 2. Mal 6 Tage später mit $\frac{1}{2400000}$ ccm Kultur mit 11 Tierpassagen, und nach weiteren 4 Tagen mit 0,000001 ccm Kultur mit 13 Tierpassagen injiziert; aber das Tier starb $4\frac{1}{2}$ Tage nachher.

Kaninchen 64 erhielt, als Kontrolle in der Leukocytenserie 13, $\frac{1}{2400000}$ ccm Kultur mit 10 Tierpassagen und 4 Tage nachher dasselbe Verdünnungsquantum von einer Kultur mit 11 Tierpassagen, starb aber an demselben Tage mit Pneumokokken im Herzblut.

Kaninchen 94 wurde als Kontrolle in der Leukocytenextraktserie 5 mit $\frac{1}{10}$ -Millionstel ccm Kultur mit 14 Tierpassagen bei einem Gewicht von 1625 g injiziert. 1 Woche darauf bei 1520 g Gewicht 0,000001 ccm Kultur mit 15 Tierpassagen, 1 Woche nachher, zum 3. Male, wurde 0,000001 ccm Kultur mit 13 Tierpassagen (und einer Extraserumbouillon-Kulturpassage) intravenös injiziert, und 7 Tage später, das 4. Mal, mit 0,00001 ccm Kultur mit 17 Tierpassagen, sowie nach weiteren 3 Tagen, das 5. Mal, 0,0001 ccm Kultur, und 15 Tage später, das 6. Mal, mit $\frac{1}{6000}$ ccm, ebenso wie die früheren Male subkutan. Das Tier behielt während der Injektionen ein Gewicht, das bis 50—150 g geringer als das Ausgangsgewicht war, nahm aber nach der 4. und 5. Injektion stark ab, und als es nach weiteren 15 Tagen im Sterben zu liegen schien, wurde das Blut des Tieres durch Aderlassen für die Untersuchung auf Antikörper in Serum aufgefangen. Nach der 2. Injektion wurde denselben Tag Leukocytose mit 25 000 und den 2. Tag mit 50 000 konstatiert. Bei 11 Untersuchungen hielt sich die Leukocytenzahl über 8000 und 10 000, und stieg nach den Injektionen; nach der letzten wurden die weißen Blutkörperchen nicht gezählt.

Kaninchen 86 erhielt, als Kontrolle in der Leukocytenextraktserie No. 3, $\frac{1}{1280000}$ ccm Kultur mit 11 Tierpassagen bei einem Gewicht von 2170 g, und $2\frac{1}{2}$ Wochen später bei 1950 g Gewicht 0,000001 ccm Kultur mit 15 Tierpassagen. Leukocytenzahl vorher 13 000. 1 Woche später bekam es 0,000001 ccm Kultur mit 13 Tierpassagen und einer Kulturpassage in Serumbouillon, und 1 Woche darauf (3. Injektion) 0,00001 ccm Kultur mit 17 Tierpassagen, und nach 1 weiteren Woche und weiteren 14 Tagen bzw. 0,0001 ccm und $\frac{1}{6000}$ ccm Kultur. Die folgenden Injektionen wurden verabreicht: (6.) 3 Wochen später $\frac{1}{4000}$ ccm; (7.) $1\frac{1}{2}$ Woche $\frac{1}{2000}$ ccm; (8.) 1 Woche $\frac{1}{500}$ ccm; (9.) 3 Wochen 0,01 ccm; (10.) $2\frac{1}{2}$ Wochen später 0,01 ccm (nach einer weiteren Tierpassage); (11.) 1 Woche später 0,02 ccm; (12.) 1 Woche später 0,1 ccm; (13.) 3 Wochen später 1 ccm; (14.) 1 Woche später 2 ccm, und (15.) 1 Woche später 4 ccm. Das Tier durfte sich nach einem Aderlaß 1 Monat ausruhen, und dann begannen die Injektionen von neuem: (16.) 1 ccm Kultur; (17.) 1 Woche später 4 ccm; (18.) 1 Woche später 4 ccm. Das Gewicht ging anfänglich unbedeutend herunter, und wieder etwas, nachdem das Tier den Tag vor der 4. Injektion 4 Junge geworfen hatte. Eine weitere Verminderung um 200 g trat nach der 5. Injektion ein, die in meiner Abwesenheit von einer anderen Person und mit möglicherweise abweichender Verdünnungstechnik (vgl. das vorige Tier) ausgeführt wurde. Das Tier erholte sich indessen bald wieder und nahm zwischen der 9. und 10. Injektion um 500 g zu, dann freilich wieder ab, kam aber nicht unter das ursprüngliche Gewicht herunter. Die Leukocytenzahlen bei 17 Zählungen hielten sich zumeist um 8000, gingen nicht unter 5500 und 6800 herab und stiegen nach der 4., 6., 7. und 14. Injektion auf 12 000—13 000. Nach der 10. Injektion wurde eine Probe Blut von dem Tier entnommen und 1 Woche nach der 14. und 17. Injektion 30 bzw. 10 ccm aus dem Ohr.

3 Monate nachher begann eine neue Immunisierungsperiode mit wärmebehandelten Pneumokokken (siehe unten p. 75.)

Ein 5. Kaninchen von 2 kg Gewicht erhielt gleichzeitig mit den 2 vorhergehenden Kaninchen 94 und 86, das zweite Mal 0,0000001 ccm von derselben Kultur subkutan und darauf die 2 folgenden Dosen von gleicher Stärke wie diese. Die Leukocytenzahl ging bei 9 Bestimmungen nicht unter 5100 und 6700 herunter, stieg aber nach jeder Injektion auf 15000.

2) 2 Kaninchen, 140 und 141, wurden gleichzeitig subkutan injiziert. Die Kulturen mit 7 bzw. 9 Tierpassagen wurden zentrifugiert (ca. 7 ccm); der Bodensatz wurde in 1 ccm steriler NaCl¹⁾ aufgeschlämmt und $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° erwärmt. Kaninchen 144 erhielt von der 2. und 3 Tage darauf von der 3. Kultur und starb mit Pneumokokken im Herzblut.

Kaninchen 140 erhielt von der 1. und 2 Tage später von der 2. und 3 Tage darauf von der 3. Kultur; es magerte in $2\frac{1}{2}$ Wochen nach der 1. Injektion von 1875 auf 1650 g ab.

1 Woche später begannen Injektionen mit lebenden Pneumokokken subkutan 0,000001 ccm Kultur mit 14 Tierpassagen. Das Tier magerte fortwährend ab und ging unter 1 kg herunter, weshalb eine Pause mit den Injektionen gemacht wurde. Erst 2 Monate später, als das Gewicht auf 1360 g gestiegen war, wurden sie mit $\frac{1}{800000}$ ccm wieder aufgenommen. Die folgenden Einspritzungen wurden mit folgenden Intervallen und Dosen verabreicht: (3.) $1\frac{1}{2}$ Woche $\frac{1}{200000}$ (entsprechend 3200 Kolonien in der Serumagarplatte); (4.) 1 Woche 0,00002 (entsprechend 3200 Kolonien in der Platte); (5.) $2\frac{1}{2}$ Wochen 0,01 ccm; (6.) 3 Wochen 0,01 ccm; (7.) 1 Woche 0,02 ccm; (8.) 1 Woche 0,1 ccm; (9.) 3 Wochen 1 ccm; (10.) $\frac{1}{2}$ Woche 2 ccm; (11.) 1 Woche 2 ccm; (12.) 1 Monat 1 ccm; (13.) 2 Wochen 1 ccm Kultur subkutan. Das Gewicht stieg und hielt sich über 1700 g bis zur 9. Injektion, wo es wieder herunterzugehen anfang, und zwar nach der 12. (als niedrigstes) auf 1360 g; es hielt sich dann zwischen 1400 und 1500 g. Dabei stellte es sich heraus, daß die Leukocytenzahl nach der 2. Injektion 15 600 betrug, und bei 7 Bestimmungen nicht unter 6000 und 6700 herunterging; nach der 6. Injektion stieg sie auf 11 400. Nach derselben Injektion wurde eine Blutprobe zur Untersuchung von Serum auf Antikörper entnommen.

Zu derselben Zeit wie Kaninchen 86 wurden andere Kaninchen mit demselben neuen Pneumokokken-Stamm injiziert.

Kaninchen 86. Das Tier hatte wieder bis auf 2,5 kg zugenommen, als nach 3 Monaten Immunisierung mit einem neuen Pneumokokken-Stamm begann. Da es nicht bekannt war, wie die Stämme sich immunologisch zueinander verhielten, wurden zuerst wärmebehandelte Pneumokokken 1 ccm verabreicht. Das Gewicht ging etwas herunter, hob sich aber wieder, und nach 1 Woche folgte eine 2. Injektion wärmebehandelter Pneumokokken, diesmal von 2 ccm. Den nächsten Tag erhielt das Tier 0,0001 ccm lebender Pneumokokken und nahm in der nächsten Woche um $\frac{1}{4}$ kg ab.

Kaninchen 142, ca. 2 kg, erhielt zur gleichen Zeit 1 ccm getöteter Pneumokokken intravenös, und darauf 0,1 ccm lebender subkutan; das Gewicht ging um 150 g herunter, stieg aber wieder. Nach einer weiteren Woche bekam es subkutan 2 ccm einer auf 54° 2 Stunden erwärmten Kultur; das Gewicht stieg, und eine Blutprobe wurde für die Untersuchung des Serums entnommen. $\frac{1}{2}$ Woche später wurden 3 ccm 3 Stunden auf 53° erwärmt und 0,001 ccm lebender Pneumokokken verabreicht. Das Gewicht fiel um 250 g, und als es nach einer Woche wieder angefangen hatte zu steigen, wurden 15 ccm Blut zur Untersuchung auf Immunkörper entnommen und 2 ccm toter und 0,0001 ccm lebender Pneumokokken verabreicht. Das Gewicht ging wieder herunter.

Kaninchen 143, $2\frac{1}{2}$ kg, erhielt gleichzeitig mit dem vorhergehenden Tier die Dosis der 3. Injektion und bei der 4. Injektion 5,5 ccm 3 Stunden bei 53° wärmebehandelter Pneumokokken. Das Gewicht ging um mehr als 250 g herunter, und das Tier starb am 3. Tage, aber Pneumokokken konnten weder direkt noch in Kultur nachgewiesen werden.

Bei diesen sich über Monate erstreckenden Untersuchungen wurden die Pneumokokken-Stämme am Leben und bei hoher Virulenz erhalten durch Aufbewahrung in dicker, feuchter Blutschicht, wie schon in der Einleitung erwähnt wurde. Ich habe auch Eintrocknung des Pneumokokken-Blutes im Exsikkator und trockene Aufbewahrung und im Eisschrank probiert, habe aber für die Versuche ausschließlich die erstere Methode angewendet.

Von großem Interesse ist es, daß es durch Injektion von kleinen Dosen hochvirulenter Pneumokokken gelang (Kaninchen 86 und 94),

1) Physiologische Kochsalzlösung.

Grundimmunität zuwege zu bringen. Hinsichtlich der individuellen Widerstandsfähigkeit sei auf das zuvor Gesagte (I. Mitteil. Bd. 76. p. 545) verwiesen. Bei der Immunisierung tritt eine deutliche Giftwirkung in der Gewichtsabnahme, die regelmäßig die Injektionen sowohl von lebenden als von wärmebehandelten Pneumokokken begleitet¹⁾, hervor, die zuweilen zu mortalem Ausgang führt, wie z. B. bei Kaninchen 143, und zwar, ohne daß eine Pneumokokken-Infektion bei der Sektion in letzterem Falle nachgewiesen werden kann, wie es andererseits mit Kaninchen 141 der Fall war, wo die Pneumokokken durch das Erwärmen offenbar nicht getötet waren. In einem Pneumokokken-Infektionsversuch mit Leukocytenextrakt konnten bei dem Tiere nach dem Tode Pneumokokken nicht einmal in Kultur nachgewiesen werden (Kaninchen No. 121), weshalb eine Kombination von Infektion und Intoxikation denkbar ist (siehe Bd. 76. p. 544). Die mit Erfolg immunisierten Tiere reagierten mit einer Leukocytose auf die Injektion von lebenden Pneumokokken und die Leukocytenzahl ging kaum unter die Normalwerte herunter²⁾. Die Leukocytose zeigte wechselnde Zahlenwerte, und es hatte den Anschein, als ob die niedrigeren Leukocytenwerte die günstige Reaktion begleiteten.

Nach den mannigfachen Versuchen, die schon frühzeitig gemacht worden sind, aktiv gegen Pneumokokken zu immunisieren, hat sich dies einerseits als eine heikle Sache und mit großen Verlusten von Tieren verknüpft erwiesen, natürlich da, wo es sich um empfindliche Gattungen, wie Kaninchen, handelte. Andererseits erhellt aus den mannigfachen verschiedenen Methoden, daß eine Grundimmunität durch „jedes Material, das spezifische Körpersubstanz von Pneumokokken“ (Neufeld), jedoch nur virulente Pneumokokken enthält, erzielt werden kann. Mit avirulenten Pneumokokken wird keine Immunität erzielt. Die verschiedenen Hauptprinzipien, die bei der Immunisierung befolgt wurden, können eingeteilt werden in Versuche 1) mit weniger virulenten oder durch Alter, Autolyse, Wärme, Karbol, Immunserum geschwächten oder getöteten Pneumokokken oder entsprechenden pneumokokkenhaltigen Sputis, Exsudaten oder Organen, 2) mit Filtraten von Pneumokokkenkulturen oder mit (Wasser-, Glycerin-)Extrakt von solchen und aus Pneumokokkensepsis-Organen und -Blut und -Exsudat, eventuell gefällt mit Alkohol oder Ammoniumsulfat („Pneumotoxin“), 3) mit hochvirulenten, lebenden Pneumokokken in kleinen Dosen. Die letztere Methode wurde von Emmerich mit hochvirulenten Pneumokokken (siehe oben) angewandt, sowie von M. v. Wassermann, der den Virulenzgrad jedoch nicht erwähnt (Deutsch. med. Wochenschr. 1899). Schon A. Fraenkel beobachtete, daß subkutane Infektion mit virulenten Pneumokokken, wenn die Tiere die Infektion überstehen, Immunität gegen nachfolgende Infektionen von virulenten Pneumokokken bewirkt. Emmerich meint, daß nur durch diese Immunisierungsmethode wirklich hochgradige Immunität zuwege gebracht werden kann, und zwar deshalb, weil die erste Reaktion nur gegen die virulenten so stark und spezifisch wird. In meinen Versuchen unten (p. 80 u. 81), die indessen nur mit kleinen Dosen Serum von mit Subkutaninjektion immunisierten Kanin-

1) Im Gegensatz zu den Verhältnissen bei dem Milzbrand.

2) Gustaf Lindberg hat in einer sorgfältigen Untersuchung die Normalwerte der Leukocyten bei dem Kaninchen an den Tieren eines und desselben Wurfes während ihrer Entwicklung bestimmt. (Uppsala Läkareförenings Förhandlingar. 1909—1910.)

Bei Williamson, Untersuchungen über die Leukocytenzahl bei subkutanen Pneumokokken-Infektionen der Kaninchen, fand sich in einem Teil der Fälle Leukocytose in den früheren Stunden der Infektion.

chen vorgenommen wurden, tritt bei den vorkommenden Dosierungen kein Unterschied in der Wirkung des Serums bei den beiden Immunisierungsarten hervor (Tabelle VI). Die Hauptsache scheint zu sein, wie aus zahlreichen Untersuchungen hervorgeht, daß wirklich virulente Pneumokokken angewendet werden, mag die Grundimmunität dann durch tote oder lebende Pneumokokken zuwege gebracht sein.

Diese 3. Methode wird von manchen Forschern mit der Schwächung der Pneumokokkenkulturen, und zwar „durch Verdünnung“, zusammengebracht. Diese Anschauungsweise ist ja auch für die maximal virulenten Pneumokokken berechtigt, wenn man von der Beobachtung ausgeht, daß von einer größeren Anzahl Kaninchen, die alle einer Septikämie durch kleine Dosen zum Opfer fielen, eine kleine Anzahl bei Infektion mit einer sehr starken Verdünnung, die für sie also eine „Schwächung“ der Kultur bedeutet, am Leben bleibt.

Von diesen aktiv immunsiierten Tieren wurden bei mehreren Gelegenheiten nach den Injektionen der größeren Dosen Blutproben zur Untersuchung mit passiver Immunisierung entnommen. Das Blutquantum wurde, nach Desinfektion und Hyperämisierung mit Xylol aus dem Ohr gewonnen, oder aus der Carotis bis zum Verbluten, oder nur als partieller Aderlaß. Nachdem der Blutkuchen sich abgesetzt hat, wird das Serum dekantiert, z. B. nach 24 Stunden, eventuell der letzte Teil in der Flasche zentrifugiert. Das Serum wird $\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° inaktiviert und in eine Anzahl Röhren gefüllt, die im Eisschrank aufbewahrt werden. Bei längerer Aufbewahrung und wiederholtem Öffnen der Röhre erwies sich der Sterilität halber ein Zusatz von 0,5 Proz. Phenol als zweckmäßig. Ich benutzte die Kultur von demselben Stamm, der zur Immunisierung gedient hatte.

Zuerst wurden 5 Versuchsserien zum Vergleiche zwischen Immunserum und Bouillon gemacht. In 2 Serien wurde auch Immunserum von den vorerwähnten Kaninchen 140 und 86, ersten Aderlaß, verglichen.

Serie 1 wurde mit 3 Tieren und einer Dosis von $\frac{1}{10000}$ ccm Serumbouillonkultur, 34000 Kolonien in der Platte entsprechend, ausgeführt. Die Immunserumdosis betrug 1 ccm. Die Kontrolle No. 144 lebte 3 Tage; die Sektion ergab sehr zahlreiche Pneumokokken im Herzblut. Die beiden gleichzeitig mit Immunserum injizierten Tiere No. 145 und 146 behielten noch nach 10 Tagen ihr Gewicht bei und blieben am Leben.

Serie 2 wurde analog mit 1 ccm unverdünnter Serumbouillonkultur ausgeführt; die Serumagarplatte zerfloß gänzlich. Die Serumdosis betrug vom Kaninchen 140 0,7 ccm, vom Kaninchen 86 1 ccm. Alle 3 Tiere starben nach 1 Tage mit Pneumokokken im Herzblut.

In Serie 3 wurde für die Kontrolle 0,001 ccm (Serumbouillon) angewendet, und 2 andere Tiere wurden mit derselben, bzw. 10mal so großer Dosis, 0,01 ccm, und mit je 0,1 ccm Immunserum injiziert. Auch hier starben alle 3 Tiere. Die Kontrolle, No. 150, verlor 300 g an Gewicht, die Leukocytenwerte betrugen am 2., 3. und 4. Tage 9800, 5600 und 1200, das Tier lebte noch am 4. Tage; bei der Sektion wurden Pneumokokken im Herzblut, nicht aber im Peritoneum, in direkten Präparaten gefunden. Das mit der größeren Dosis und Immunserum injizierte Kaninchen 151 verlor in 3 Tagen 200 g an Gewicht. Die entsprechenden Leukocytenzahlen waren 13 300, 13 500 und 8000; der Tod trat am 6. Tage ein, und Pneumokokken konnten mittels Kultur im Herzblut nachgewiesen werden. Das mit der kleineren Dosis von Serum injizierte Tier, No. 152, hatte bereits am 3. Tage um 300 g abgenommen; die Leukocytenzahlen waren 3500 und 5500; am 4. Tage war es tot, und bei der Sektion zeigte sich eine fibrinöse Peritonitis mit Pneumokokken, die auch im Herzblute vorkommen.

In Serie 4 war die Dosis der Kontrolle 0,0001, und 3 andere Tiere wurden mit derselben, der 10-fachen (0,001 ccm) und der 100-fachen (0,01 ccm) Dosis und je 0,1 ccm Immunserum injiziert. Die Kontrolle, No. 153, und das mit der Mitteldosis, No. 154, lebten 2, das mit der großen Dosis, No. 155, 3 Tage, alle 3 hatten bei der Sektion Pneumokokken in Reinkultur im Herzblut. Das Tier mit der kleinen Dosis und Immunserum, No. 156, magerte während 9 Tagen nach und nach bis zum Tode ab,

Tabelle VI.

Serie	Tier		Kultur		Immunserum		Gewicht in Tagen		Leukocytenzahl am Tage		Lebte Tage	Sektion	
	Kaninchen No.	Gewicht in g	in Kubikzentimeter	Kolonien in der Platte	in Kaninchen	in Kubikmeter			2.	3.		Kultur	direkt
Serie 1	144	1900	0,0001	34 000	.	0	{ 2. 1850 3. 1750	.	6000	6200	5	.	Pnk.
	145	1525	0,0001	34 000	140	1,0	{ 2. 1500 3. 1480	.	8000	8700	überlebe	.	.
	146	1500	0,0001	34 000	86	1,0	{ 6. 1575 11. 1520 bzw. 1550 1675 und 1630	1530	8000	8300	"	.	.
Serie 2	147	1750	1,0	In der Platte unzahlbar	140	0	1	.	Pnk.
	148	1725	1,0		86	0,7	1	.	"
	149	1425	1,0			1,0	2	.	"
Serie 3	150	2070	0,001	.	.	.	3. 1880	4. 1800	{ 1. 9800 3. 1200	2. 5600	3	.	Pnk.?
	151	1890	0,01	.	86	0,1	1770	1780	13300	13500	5 1/2	Pnk. 1)	Pnk.?
	152	1580	0,001	.	86	0,1	1290	.	bzw. 8000 bzw. 3500	5500	3		Pnk. außerdem fibrinöse Peritonitis
Serie 4	153	1650	0,00001	.	86	0	2	.	Pnk.
	154	1525	0,001	.	86	0,1	4	.	"
	155	1280	0,0001	.	86	0,1	{ 4. 1210 7. 1012	6. 1100	.	.	2	Pnk.	"
Serie 5	156	1260	0,00001	.	.	0,1	8. 980	.	.	.	8	.	.
	157	1310	1/100-Mill.	90	.	0	2. 1130	9. 1210	2. 1130	.	4	Pnk.	Pnk.
	158	1250	1/100 "	900	.	0,1	2. 1120	9. 1020	14000	.	überlebe	.	.
	159	1210	1/100 "	90	.	0,1	3. 1070	.	8200	.	"	.	.

1) Bezeichnung für Pneumokokken.

und bei der Sektion (die erst nach 48 Stunden ausgeführt wurde) wurden direkt keine, dagegen aber in Kultur Pneumokokken angetroffen.

In Serie 5 wurde die Kulturdosis auf $\frac{1}{100}$ -Millionstel Kubikzentimeter, entsprechend 90 Kolonien in der Platte, für die Kontrolle vermindert und die Tiere mit derselben, bzw. der 10-fachen Kulturdosis + 0,1 ccm Immunserum injiziert. Die Kontrolle, No. 157, und das Tier mit der kleinen Dosis, No. 158, verloren in ein paar Tagen 200 g, das mit der großen Dosis, No. 159, nur 100 g. Die Kontrolle starb am 3. Tage mit Pneumokokken im Herzblut; die 2 übrigen lebten noch am 8. Tage, das mit der größeren Dosis, No. 159, hatte wieder an Gewicht zugenommen und das mit der kleineren, No. 158, mäßig abgenommen.

Immunserum erwies sich also in großer Dosis, 1 ccm, wirksam, wenn es gleichzeitig mit der Infektionsdosis injiziert wurde, selbst wenn diese, wie in der ersten Serie, ein hohes Multiplum der tödlichen Dosis enthielt. Hierbei sind indessen einige Umstände zu beachten. Teils finden sich in Serie 1 keine Kontrollen für niedrigere Dosen; da aber in den angewendeten Kulturen niemals eine plötzliche Abnahme der Virulenz verspürt wurde — die Kulturen wurden, wie in Mitteilung I beschrieben, angelegt — so ist aller Wahrscheinlichkeit nach anzunehmen, daß die tödliche Dosis am höchsten etwa 1-Tausendstel derjenigen der Kontrolle betragen hat. In Serie 5, mit einer kleinen Dosis — 0,1 ccm — Immunserum, kann die tödliche Dosis mit Rücksicht auf die Anzahl der Pneumokokkenkolonien in der Platte nicht niedriger gelegen haben als 1-Hundertstel derjenigen der Kontrolle¹⁾, aber auch das mit einer 10mal so großen Dosis injizierte Kaninchen 158 blieb am Leben. Im übrigen wirkt auf diese kleine Serumdosis die Verdünnung natürlich in höherem Grade ein, als auf die 10mal so große in Serie I. Der Kulturflüssigkeit war im allgemeinen mit Bouillon auf 0,5 ccm verdünnt. Wie Neufeld und seine Schüler gezeigt (Uebersicht in Kolle und Wassermann) haben, tritt die Wirkung von bakteriotropen Seris bei einer gewissen Konzentration auf, und es fehlt jegliche Wirkung unter diesem Schwellenwert. Bei einer so großen Kulturdosis wie 1 ccm wird jedoch in der Serie 2 keine Serumwirkung sichtbar. Zu den Zwischendosen, Serien 3 und 4, sei bemerkt, daß Kaninchen 151 etwas länger, $1\frac{1}{2}$ Tage, lebte, als die Kontrolle und während der Zeit hohe Leukocytenzahlen aufwies, ebenso wie z. B. das überlebende Kaninchen 158 in Serie 5. Ferner wurde bei Kaninchen 152 bei der Sektion eine fibrinöse Peritonitis angetroffen (siehe unten). In Serie 4 lebte Kaninchen 156 bedeutend länger (8 Tage) als die Kontrolle (4 Tage) und zeigte Pneumokokken nicht direkt bei der Sektion, sondern erst in Kultur.

In diesen Versuchen wurden keine besonderen Kontrollen mit Normalserum angewendet, indessen verbleibt die Kulturdosis in vitro nur einen ganz kleinen Augenblick vor der Injektion, bevor sie demnach in Normalserum, d. h. in das Tier gelangt. Ferner ist in zahlreichen der vorhergehenden Versuche Serum in der Bouillon angewendet worden, mit der die Kulturdosis für die Kontrolle verdünnt worden war, unter anderem Kaninchenserum in einer Menge von 0,1—0,2 ccm, und zwar ohne Einfluß selbst auf die minimalen Dosen, z. B. Kaninchen 104, in Leukocytenextraktserie 7. Endlich zeigt, nach zahlreichen Beobachtungen mit verschiedenen Methoden, Normalserum vom Kaninchen keine bakterienfeindlichen Eigenschaften gegen virulente Pneumokokken.

Ein spezieller Zweck der passiven Immunisierung war für mich, zu untersuchen, ob eine Zugabe von Leukocyten die antibakterielle

1) Also nach den Gesetzen für die sehr hohen Verdünnungen zu beurteilen vgl. Mitteilung I), wenn sie isoliert vorkäme.

Tabelle

Serie	Tier		Kubik- zentimeter Kultur- flüssigkeit	Anzahl Bak- terien nach der Anzahl Kolonien in der Platte	Immunserum	
	Kaninchen No.	Gewicht in g			Tier	in Kubik- zenti- meter
Serie 1	161	1425	0,0001	.	Kaninchen 86	0,1
	162	1300	0,0001	.	" 86	0,1
	163	1400	0,001	.	" 86	0,1
Serie 2	165	1860	$\frac{1}{1}$ -Mill.	.	" 86	0,1
	166	1530	0,00001	.	" 86	0,1
	167	1750	$\frac{1}{1}$ -Mill.	.	" 86	0,1
Serie 3	169	1950	$\frac{1}{1}$ "	2048	" 86	0,1
	170	1700	$\frac{1}{1}$ "	2048	" 86	0,1
Serum zugesetzt. $\frac{1}{8}$ Proz. Phenol von neuem er- wärmt						
Serie 4	172	2650	$\frac{1}{8}$ "	200	Kaninchen 86	0,1
	173	2150	$\frac{1}{8}$ "	200	" 86	0,1
	174	2360	$\frac{1}{2}$ "	600	" 86	0,1
Neue Kultur. Derselbe Pneumokokkenstamm,						
Serie 5	176	1940	0,000001	1 200	—	0
	177	1830	0,000001	1 200	Kaninchen 142	1,0
	178	1740	0,000001	1 200	" 142	1,0
Serie 6	181	2050	0,0005	64 000	—	0
	182	2050	0,0005	64 000	Kaninchen 142	1,0
	183	1890	0,0005	64 000	" 142	1,0

VII.

Leuko- cyten in g	Gewicht nach Tagen	Leukocytenzahl an den Tagen	Lebte Tage	Sektion Herzblut	
				Kultur	direkt
0	2. 1300	2. 2 400	2	.	Pnk.
0,5	—	12 200	2	.	"
0,5	1400	21 500	2	.	"
0	{ 2. 1840 3. 1880	{ 8 000 2 200 }	3	.	"
0,5	2. 1480	11 900	2	{ Fibrinöse Peri- tonitis. }	"
0,5	{ 2. 1640 3. 1520 4. 1340	{ 15 700 10 000 8 000 }	3	Pnk.	0
0	.	.	3	.	Pnk.
1,3	.	.	2	.	"
0	{ 2. 2640 3. 2490 4. 2300	{ . . .	3	.	"
1,0	{ 2. 2100 3. 1900 4. 1800	{ . . .	3	.	"
1,0	{ 2. 2210 3. 2180 4. 2100 10. 1810	{ . . .	9	.	"
der zu Immunisierungen angewendet wurde.					
0	{ 3. 1860 4. 1700 5. 1625 6. 1520	.	6	Pnk.	Pnk.
0	{ No. 177 178 3. 1800 — 5. 1790 1780 6. 1800 1800	.	überlebte	.	—
2,0	{ 7. 1770 1780 10. 1625 1570 12. 1840 1740	.	"	.	—
.	{ 2. 1890 3. 1850 4. 1760	.	4	Pnk. wurden im Blute aus dem Ohr am Tage vor dem Tode nachgewiesen	
.	{ No. 182 183 2. 2010 1750 3. 1940 1780	.	überlebte	.	.
0,25	{ 4. 1850 1850 5. 1860 1800	.	"	.	.

Wirkung der Immunseruminjektion gegen die Pneumokokkeninfektion verstärke.

M. v. Wassermann (Deutsch. med. Wochenschr. 1899) fand, daß Knochenmark von immunisierten Kaninchen in der Schutzwirkung bei Pneumokokkeninfektionen an Mäusen Serum überlegen war. Das Mark war indessen nicht blutfrei, und es wurden verschiedene Dosen ohne genaue Angaben über Verdünnung und Virulenz angewendet, weshalb man die Wirkung nicht völlig exakt beurteilen kann. Auch leukocytenreiche Exsudate waren wirksam (indessen wird in der Erörterung die Phagocytosewirkung ausgeschlossen), andere Organemulsionen weniger. Daß das Knochenmark vor anderen Organen einen bakterienfeindlichen Einfluß bei Infektionen ausübt, hat auch Pettersson (siehe unten) gezeigt.

Meine Versuche wurden ähnlich angeordnet wie die vorhergehenden, durch Mischung der Bestandteile im Reagensglase unmittelbar vor der Injektion, welche subkutan gemacht wurde. 6 Serien von Versuchen wurden angestellt:

In Serie 1 war die Kulturdosis für das Serumtier, No. 161, 0,0001 ccm, für ein Leukocyentier, No. 162, die gleiche und für das zweite, No. 163, die 10-fache (0,001). Die Serumdosis war 0,1 ccm und die Leukocytenmenge für die beiden letzteren $\frac{1}{2}$ g feuchtes Gewicht. Die Leukocytenzahlen betrugen nach 24 Stunden bzw. 2400, 12200 und 21500; ein Tag später starben alle Tiere mit Pneumokokken im Herzblute.

Serie 2 wurde analog ausgeführt, mit Kulturdosis 0,000001 und 0,000001 bzw. 0,00001 ccm, Serumdosis 0,1 ccm und Leukocytenmenge $\frac{1}{2}$ g. Die Leukocytenzahlen waren nach 24 Stunden 8000, 15700 und 11900. Nach weiteren 24 Stunden war das Kaninchen No. 166 mit der größeren Dosis tot; bei der Sektion wurde fibrinöse Peritonitis gefunden, aber keine Pneumokokken in Präparaten vom Exsudat, dagegen Reinkultur davon in Präparaten aus dem Herzblut. Das Tier war am schnellsten abgemagert. Die beiden anderen magerten sukzessive ab; die Leukocytenzahlen gingen herunter, und am 4. Tage waren sie tot; im Blute wurden bei der Kontrolle und beim Leukocyentier in Kultur Pneumokokken angetroffen.

In Serie 3 wurden 2 Tiere mit 1 Millionstel ccm Kultur + 0,1 ccm Immunserum und das 2. derselben außerdem mit 1,3 g Leukocyten injiziert; die Kontrolle starb am 4., das andere Tier am 3. Tage, beide mit Pneumokokken im Herzblute.

In Serie 4 wurden 3 Tiere injiziert, Kulturdosis $\frac{1}{6}$ -Millionstel ccm bzw. $\frac{1}{2}$ -Millionstel ccm, Immunserumdosis 0,1 ccm, Leukocytenmenge 1 g. Die Tiere mit der kleineren Dosis starben am 4. Tage mit Pneumokokken im Herzblute und hatten 300 g abgenommen (von $2\frac{1}{3}$ resp. 2 kg). Das Tier mit der größeren Dosis starb erst am 9. Tage; es hatte um 450 g abgenommen (von $2\frac{1}{3}$ kg); Pneumokokken nicht direkt, aber in Kultur aus dem Herzblute.

Weitere 2 Versuchsreihen wurden mit einem neuen Pneumokokkenstamm gemacht und mit Immunserum von dem mit demselben Stamm gespritzten Kaninchen No. 142.

In Serie 5 wurden 3 Tiere mit einer Kulturdosis von 0,00001 (= 1200 Kolonien in der Platte) injiziert, ein 2. Tier, Kaninchen 177, außerdem mit 1 ccm Immunserum und das 3., Kaninchen 178, mit derselben Kultur- und Serummenge sowie 2 g Leukocyten. Die Kontrolle nahm sukzessive um 400 g ab und starb am 7. Tage mit Pneumokokken im Herzblute und in Kultur aus demselben. Die beiden mit Immunserum resp. Immunserum + Leukocyten injizierten nahmen erst 200 g ab und dann wieder zu.

In Serie 6 wurden 3 Tiere mit $\frac{1}{2000}$ ccm, entsprechend 64000 Kolonien in den Platten 2 und 3, + 1 ccm Immunserum injiziert, das 3., Kaninchen 183, erhielt außerdem 0,25 g Leukocyten. Die Kontrolle nahm 250 g ab, hatte am 4. Tage viel Pneumokokken in direkten Präparaten aus dem Ohrenvenenblut und starb den Tag darauf. Die beiden anderen Tiere, 182 und 183, mit Immunserum resp. Immunserum und Leukocyten nahmen um 200 resp. 150 g ab und fingen dann wieder zuzunehmen an.

In den beiden letzteren Serien, wo eine große Immunserummenge, 1 ccm, angewendet werden konnte, trat die Wirkung desselben hervor. Die kleine Dosis, 0,1 ccm, kam in keinem Versuche mit entsprechend geeigneter Menge Pneumokokken zur Anwendung (vgl. die Versuche in der vorigen Abteilung).

Die Versuche lieferten keinen entscheidenden Beitrag zur Lösung des aufgestellten Problems, aber einige weitere Beobachtungen in derselben Richtung, wie die der vorhergehenden Abteilung. Das Tier 174 in Serie 4 lebte ungewöhnlich lange und zeigte Pneumokokken erst in Kultur aus dem Herzblute. Diese Unregelmäßigkeit in der Wirkung verschiedener Dosierungen tritt in Serie 4 hervor und dürfte vielleicht auf einen verschiedenen Grad von individueller Widerstandsfähigkeit zurückzuführen sein, obwohl eine kombinierte Immunserum- und Leukocytenwirkung ja nicht ausgeschlossen werden kann. Ferner wurde eine hohe Leukocytenzahl bei einigen mit Immunserum injizierten Kaninchen beobachtet, die durch die Infektion jedoch schnell starben, No. 162 und 163 in Serie 1, No. 166 und 167 in Serie 2, und bei der Sektion eine fibrinöse Peritonitis bei No. 166. Die „Leukocytose“ dürfte wohl, wie die in den Versuchen der vorhergehenden Abteilung, zunächst der Einwirkung des Immunserums zuzuschreiben sein.

Um das vorerwähnte Problem zu lösen, waren Serien mit einer größeren Anzahl von Tieren erforderlich, so daß mehrere ungleiche ausreichende Immunserumdosierungen angewendet und bei der unteren Grenze der Immunserumwirkung die Leukocyten eingesetzt werden konnten, um deren eventuelle Wirkung so hervortreten zu lassen.

Selbst wenn eine Vermehrung der antibakteriellen Kraft sich aus einem oder dem anderen Grunde in der Verbindung Immunserum und Leukocyten, zusammen injiziert, vor Immunserum allein nicht zeigen sollte, könnte solche möglicherweise hervortreten in der Verbindung Leukocytenextrakt und Immunserum, zusammen dargereicht. Einerseits zeigen die Plattenversuche eine Wachstumshemmung als Resultat der Extraktwirkung (Mitteilung I), andererseits ist in vivo das Immunserum ersichtlich antibakteriell wirksam. Daß das Leukocytenextrakt aktivieren kann, haben Bail und Pettersson gezeigt, und daß es inaktiviert werden kann, Kling. Eine Verstärkung in der Wirkung subkutan injizierten Leukocytenextrakts auf lebende, gleichzeitig eingespritzte Leukocyten hat Pettersson bei Milzbrandinfektion an Kaninchen dargetan.

Tabelle VIII.

	Kaninchen No.	Gewicht in g	Anzahl im Kubikzentimeter	Immunserum		Leukocyten in g	Leukocyten- extrakt von g Leukocyten	Gewicht nach Tagen	Lebte Tage	Sektion direkt
				Kanin- chen No.	in Kubik- zentimeter					
Serie 1	186	2210	$\frac{1}{1}$ -Mill. 900	86	0,1	0,8	0	2. 1980	4	Pneumokokken
	187	2000	$\frac{1}{1}$ „ 900	3. Aderlaß	0,1	0,8	0,8	4. 1910	1	Außerdem Pneumokokken- pericarditis
Serie 2	190	.	$\frac{1}{5}$ „ 600	86	0,1	0	0	No. 190 191 192 2. 2020 2080 1980	—	
								3. 1980 1930 1980		
								4. 2060 1910 2020	9	—
	191	.	$\frac{1}{5}$ „ 600	„	0,1	1	0	5. 1920 1800 1880		
	192	.	$\frac{1}{5}$ „ 600	„	0,1	1	2	6. 1780 1700 1770		
								7. „ „ „	7	Pneumokokken
								9. „ „ „		
								10. 1680		

6*

Um diese Frage zu untersuchen, wurden 2 Serien von Versuchen angestellt:

Serie 1. Vergleich von Leukocyten resp. Leukocytenextrakt, jedes mit Immuns serum. Die Dosis war 0,000001, entsprechend 900 Kolonien in der Platte, Immuns erummeng 0,1 ccm, Leukocytenmenge 0,8 g, resp. Extrakt von gleicher Menge. Das Leukocytentier, Kaninchen 186, lebte 4 Tage und hatte bei der Sektion reichlich Pneumokokken im Herzblut. Das Extrakttier, Kaninchen 187, starb noch früher, hatte Pneumokokkenpericarditis und auch Pneumokokken im Herzblute.

In Serie 2 wurden 3 Tiere injiziert, das erste, No. 190, mit Immuns erum 0,1 ccm, das zweite, No. 191, außerdem mit 1 g Leukocyten, das dritte, No. 192, außerdem mit Leukocytenextrakt von 2 g Leukocyten. Die Kulturdosis war $\frac{1}{5}$ -Millionstel Kubikzentimeter für alle 3 Tiere. Sie magerten sukzessive ab, und 191 starb am 10., 192 am 8. Tage. Keine Pneumokokken im Herzblut bei 191, mutmaßlich bei 192, das bei der Sektion bereits in beginnender Verwesung begriffen war. Kaninchen 190 war am 11. Tage um 350 g abgemagert.

Die Versuche, die mit der kleinen Immuns erumdosis 0,1 ausgeführt wurden, hatten nicht die geeignete Menge Pneumokokken zum Reagieren und gewähren keinen Beitrag zur Lösung der Frage. In Serie 1 wurde bei Kaninchen 187 fibrinöse Pericarditis angetroffen, die vielleicht den frühen letalen Ausgang beschleunigte. Die im vorhergehenden an mehreren Stellen erwähnten fibrinösen, lokalisierten Entzündungen sind nur an Tieren aufgetreten, die gleichzeitig mit der Infektionsdosis Immuns erungsprodukte erhalten hatten, nicht aber bei den Kontrollen. Es ist demzufolge denkbar, daß dadurch eine Schwächung der Virulenz mit Neigung zu lokalisierten Entzündungen stattgefunden hat. Lokalisierte fibrinöse Entzündungsprozesse bei weniger virulentem Infektionsmaterial werden schon von A. Fraenkel, Emmerich u. a. erwähnt.

Nachdruck verboten.

Studien über die Pneumokokken-Immunität.

[Aus dem klinischen Laboratorium des Seraphimerlazarettts.]

Von J. Tillgren.

III. Mitteilung.

1. Aktive Immuns erung mit großen Dosen.

Die Immuns erungsversuche in Mitteilung I und II ergaben als Resultat eine deutliche aktive und passive Immunität. Sie waren indessen mit den behutsamen subkutanen Injektionen von kleinen Dosen sehr zeitraubend und lieferten ferner, nach der passiven Immunität zu urteilen, kein sonderlich hochwertiges Serum.

Ich leitete daher eine Serie mit einem neuen, hochvirulenten Pneumokokkenstamm und intravenösen Injektionen ein.

10 Kaninchen, No. 193—202, $1\frac{1}{8}$ —3 kg wiegend, wurden zuerst mit einem Zentrifugat von ca. 5 ccm Serumbouillonkultur wärmegetöteter Pneumokokken und dann mit steigenden Dosen lebender Kulturen injiziert, die, sobald die Dosen eine Quantität von einigen Kubikzentimetern erreichten, zentrifugiert wurden (nach Neufeld). Bevor die Tiere die schließlichen Dosen von 5—20 ccm erreichten, magerten einige ab und einige starben auch. Bei den Sektionen wurden als besonders bemerkenswert einige trockene, käseartige, bis bohngroße Herde in Lungen und Herz, weiter Pleuritis, Pericarditis, Peritonitis mit Pneumokokken beobachtet. Bei dem Kaninchen nehmen „Abszedierungen“ diesen Typus infolge des Mangels an proteolytischen Enzymen in den Leukocyten an. Serum wurde kurze Zeit (einige Tage) nach vollendeter Immuns erung entnommen und in gewohnter Weise aufbewahrt. Gewichts- und Temperaturmessungen wurden vorge-

nommen. Eine andere Serie von 4 Kaninchen, No. 203—206, wurde zuerst mit in Natrium-Taurocholat behandelten Pneumokokken resp. 2,5 und 10 ccm Flüssigkeit mit 2- bis 4-proz. Taurocholas natrius-Lösung (Merck) 2mal intravenös injiziert. Die 4-proz. Lösung hinterließ keine Spuren von Pneumokokken bei direkter mikroskopischer Untersuchung; in der 2-proz. traten sie fortwährend in der Färbung hervor. Dann begann Immunisierung mit lebenden Kulturen. Das für die passive Immunisierung angewendete Serum wurde von der ersten Serie gewonnen.

Gleichzeitig wurde auch ein Schaf, ein nicht ganz 1-jähriger Widder, immunisiert mit intravenösen Injektionen zuerst von 50 ccm vom Zentrifugat von wärmegetöteten und dann lebenden Kulturen in steigenden Dosen bis zu 250 ccm hinauf. Das Tier magerte im Verhältnis zum Zwillingsstier erheblich ab, 30 gegen 36 kg, wurde zur Ader gelassen und durfte dann eine Zeitlang ausruhen, bevor die Injektionen wieder von neuem aufgenommen wurden. Blut wurde jedesmal bis zu 100 ccm abgezapft, kurze Zeit (einige Tage) nach der letzten großen Dosis (das Zentrifugat von 1 l Ascitesbouillonkultur). Das Serum wurde wie oben in gewohnter Weise gewonnen und aufbewahrt.

2. Versuche über passive Immunisierung mit Immunserum und Leukocyten.

Die Serien wurden nach denselben Prinzipien angeordnet, wie die in Mitteilung II mit Mischung von Infektionsdosis, Serum oder Kochsalz und Leukocyten unmittelbar vor der Injektion, welche subkutan an Kaninchen vorgenommen wurde. Normalserum wurde von gesunden Individuen derselben Tierart, wie das Immuntier, gewonnen.

Die Virulenz der Kultur war derart, daß ein Kaninchen von 1½ kg, No. 209, 3 Tage nach der Injektion starb; die Temperatursteigerung bis 41° und 40,6° ging wieder auf 37,6° herunter. Ein anderes Tier, No. 210, erhielt eine große Dosis (5 ccm) intravenös und starb schon nach 24 Stunden.

Die Tiere No. 241 und 242 der Serie 3 erhielten statt Normalserum Serum von einem Kaninchen, das eine Pneumokokkeninfektion durchgemacht hatte. Noch eine Serie, No. 4, wurde mit Kaninchenimmunserum und Kaninchenleukocyten ausgeführt. Sie umfaßte 9 Tiere, No. 245—253, und führte zu ähnlichen Resultaten.

Meine Pneumokokkenimmunsera von Schaf und Kaninchen, mit großen Dosen zentrifugierter Ascitesbouillonkulturen, intravenös injiziert gewonnen, zeigten in diesen Versuchen schon in kleinen Dosen (0,1 bis 0,2 ccm) eine bedeutende Schutzwirkung bei gleichzeitiger subkutaner Einführung mit der Kultur. In Serie 1 schützte Schafserum gegen mindestens die 100-fache tödliche Dosis und in Serie 3 Kaninchenserum auch gegen mindestens die 100-fache tödliche Dosis. Mit Hinsicht auf die oben gezeigte Pneumokokkenvirulenz bei Kanincheninfektionen ist es indessen wahrscheinlich, daß die tödliche Dosis noch 1000-fach geringer war.

Die Versuche zeigen auch bei diesen großen Abstufungen zwischen den Dosen eine Verschiebung zugunsten der sowohl mit Leukocyten als auch Immunserum injizierten Tiere im Vergleich zu denjenigen, die nur Immunserum erhielten. In Serie 2 schützte Schafimmunserum mit Leukocyten gegen eine 100mal größere Dosis als Immunserum allein und in Serie 3 Kaninchenimmunserum ebenso gegen eine 100mal größere Dosis als Immunserum allein und gegen die 10000-fache tödliche Dosis. Hier tritt vielleicht die seit Issaëf und Mennes von zahlreichen Forschern in vitro konstatierte „Opsonisierung“ bei der Phagocytose von virulenten Pneumokokken hervor. Schon bei subkutaner Injektion von Immunserum in hinreichender Dosis mit Pneumokokken strömt zweifellos eine Anzahl Leukocyten hinzu, welche genügt, um die infizierenden Pneumokokken aufzunehmen; es hängt alles von der Menge des Immunserums ab. Bei gleichzeitiger Injektion von Exsudatleukocyten dürfte eine gesteigerte Schutzwirkung etwa dadurch entstehen, daß

Tabelle IX.

	Kanin- chen	Asces- bouillon in Kubik- zentimeter	Immun- serum	Normal- serum	Leuko- cyten in Gramm	Gewicht vor dem Ver- such	Tage									
							2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Serie 1. Immunscharf- serum	215	0,2	0,2	—	0	1410	1350	1300	1260 +		
Kaninchen- leukocyten	216	0,0002	0,2	—	0	1300	1310	1290	1300	1310	1350	1355	.	.		
	217	0,000002	0,2	—	0	1200	1170	1130	1100	1080	1050	1020	.	.		
	218	0,2	0,2	—	0,4	1690	1620	1525 +	1380	1385	1380	1370	.	.		
	219	0,0002	0,2	—	0,4	1400	1380	1350	1300	1280	1320	1320	.	.		
220	0,000002	0,2	—	—	0,4	1225	1190	1190	1300	1280	1320	1320	.	.		
221	0,000002	—	—	—	—	1890	1895	1750 n.		
Serie 2. Immunscharf- serum	224	0,1	0,1	—	0	1370	1310	1240	1190	1190 +		
225	0,01	0,1	—	—	0	1270	1175	1150	1120	1100	1020 +	1020 +	.	.		
226	0,0001	0,1	—	—	0	1160	1170	1190	1200	1180	1190	1190	.	1200		
Kaninchen- leukocyten	227	0,1	0,1	—	0,5	1390	1290	1230	1210	1180 +		
	228	0,01	0,1	—	0,5	1275	1170	1170	1120	1100	1120	1120	.	.		
	229	0,0001	0,1	—	0,5	1210	1145	1100	1110	1125	.	1129	.	1180		
	230	0,01	.	0,1	0,5	1270	1220	1150	1080	1070 +	.	.	.	1187		
231	0,0001	.	0,1	0,1	1250	1180	1110	1060	1050	1050 +	.	.	1200	1190		
232	0,0001	—	—	—	0,5	1490	1375	1290	1230	1215	1190 +	990 +	.	.		
Serie 3. Immunkanin- chenserum	235	0,1	0,1	—	—	1540	+	.	1490	1460		
236	0,001	0,1	—	—	—	1390	1450	1440	1490	1460	1425	.	.	.		
237	0,00001	0,1	—	—	—	1250	1230	1250	1220	1220	1190	.	.	.		
Kaninchen- leukocyten	238	0,1	0,1	—	0,5	1420	1410	1350	1320	1250	1210	.	.	.		
	239	0,001	0,1	—	0,5	1620	1700	1670	1690	1710	1670	.	.	.		
	240	0,00001	0,1	—	0,5	1220	1240	1250	1190 +	1190	1120	.	.	.		
	241	0,001	0,1	—	0,5	1630	1520	1450	1410	1190	1150	.	.	.		
	242	0,00001	0,1	—	0,5	1460	1450	1370	1250	1190	1150	.	.	.		
	243	0,00001	—	—	.	1390	1390	1350	1310	1300 +		

die Verdünnung von Immunserum durch den Säftezufluß nicht bis unter die erforderliche Konzentrationsschwelle erfolgt, bevor die schon von Anfang vorhandenen (Exsudat-)Leukocyten die Pneumokokken phagocytiert haben¹⁾).

Auch bei Versuchen an weißen Mäusen, No. 164—204, erwiesen sich diese Immunsera von Schaf und Kaninchen wirksam, aber es wurde keine Steigerung der Schutzwirkung durch Zugabe von (heterologen) Leukocyten von Kaninchen und Ratte (*Mus decumanus*) erzielt.

3. Immunkörper in Pneumonieserum.

Im Serum Kranker, die eine akute, croupöse Lungenentzündung mit Pneumokokken durchgemacht haben, hat man in verschiedener Weise versucht, Immunkörper gegen Pneumokokken zu finden. Verschiedene Untersucher haben dabei negative Resultate erzielt. So hat es sich als schwierig erwiesen, das Vorkommen von z. B. Agglutininen nachzuweisen, und um ein Resultat zu erzielen hat man unverdünntes Serum angewendet und die Beobachtung über mehr als 12 Stunden ausgedehnt, Kettenbildung mikroskopisch zu Hilfe genommen etc. Was die die Leukocytose fördernden Immunkörper, Bakteriotropine, anbelangt, so konnten Neufeld und Haendel mit ihrer Methodik für Serumprüfung (hier vorhergehende Serum- und nachfolgende Pneumokokken-intraperitoneal-Injektion an weißen Mäusen) bei einer Reihe Pneumonici nach der Krisis derartige Immunkörper nachweisen (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 34.).

Ich habe nach demselben Schema, jedoch mit simultanen subkutanen Injektionen Serum vor und nach der Krisis bei einer Reihe von Fällen typischer croupöser Pneumonie untersucht. Die Kulturen wurden aus dem eigenen Sputum der Patienten durch Injektion an weißen Mäusen und Züchtung in Ascitesbouillon gewonnen. Die Dosen betrugen für Serum 0,2 und 0,1, die Kultur Dosen abnehmende große Verdünnungen von Ascitesbouillonkultur. Parallelserien mit prä- und postkritischem Serum von demselben Patienten. Die Resultate fielen bei mehreren von diesen deutlich positiv aus und waren von gleicher Stärke²⁾ wie bei den intraperitonealen Schutzinjektionen Neufelds und Haendels (Tab. X). Einige andere Forscher (Seligmann u. a.) haben negative Resultate erzielt.

Meine Versuche hatten positive Resultate ergeben, und ich war im Begriff, den Zeitpunkt näher nach Stunden zu untersuchen, wann diese Immunkörper im Serum im Verhältnis zu dem kritischen Temperaturfall auftraten³⁾, und unternahm gleichzeitige Untersuchungen über Leukocytose, Viskosität und die Koagulationszeit im Blute — dank der Zuvorkommenheit des derzeitigen Chefs der Klinik durfte ich alle eingelieferten Pneumonien in die Infektionsabteilung des Seraphimerlazarets aufnehmen — als ich durch äußere Umstände genötigt wurde, die Untersuchung zu unterbrechen. Seitdem sind große und hübsche Untersuchungen von Dochez über die Koagulationszeit des Blutes und die Tropine bei der Krisis veröffentlicht worden. Ich habe ferner in einigen

1) Diesen Mechanismus zu analysieren, ist die nächste Aufgabe.

2) Neufeld u. Haendel fanden ein noch stärkeres Serum.

3) Nach der Schwierigkeit, die Immunkörper nachzuweisen, zu urteilen, finden sie sich vielleicht nur eine kürzere Zeit im Serum.

Tabelle X.

Serie III Pat. No. 344 II. O. J. Krisis den 17.; Kultur und Serum von demselben Pat.

Maus No.	Kultur in Kubik- zentimeter	Serum vom Tage	Tag								Sektion; im Herzblut
			2	3	4	5	6	7	8	9	
20	0,1	15. 0,2	+	Pneumokokken
21	0,001	15. 0,2	+	—
22	0,00001	15. 0,2	.	+	Pneumokokken
23	0,1	17. 0,2	+	"
24	0,001	17. 0,2	lebt	.	.
25	0,00001	17. 0,2	"	.	.
26	0,1	19. 0,2	.	+	Pneumokokken
27	0,001	19. 0,2	lebt	.	.
28	0,00001	19. 0,2	"	.	.
29	0,00001	0,0	.	.	+	Pneumokokken
		Normal- serum									
30	0,00001	0,2	.	+	"

Serie XIV. Pat. No. 56. V. S. Krisis den 16. u. 17.

Maus No.	Gewicht in g	Kultur in Kubik- zentimeter	Serum vom Tage	Tag		Sektion; im Herzblut
				2	3	
152	23,5	0,1	14. 0,2	+	.	Pneumokokken
153	23,5	0,001	14. 0,2	20,5	+ 20,5	
154	21,0	0,00001	14. 0,2	.	+ 19,5	"
155	22,5	0,1	15. 0,2	+ 19,5	.	"
156	20,0	0,001	15. 0,2	17,5	+ 17,0	"
157	11,0	0,00001	15. 0,2	10,0	+ 9,0	"
158	17,5	0,1	18. 0,2	+ 15,0	.	"
159	16,0	0,001	18. 0,2	17,0 munter	16,5 munter	—
160	17,0	0,00001	18. 0,2	17,5 "	17,5 "	—
161	22,5	0,1	— 0,0	+ 19,5	.	Pneumokokken
162	22,5	0,001	— 0,0	19,5	+ 19,0	"
163	19,0	0,00001	— 0,0	16,5	+ 16,0	"

Versuchen Exsudatleukocyten von Kaninchen gleichzeitig mit zirkumkritischen Sera auch Mäusen injiziert, aber mit diesen heterologen Leukocyten keine besseren Resultate erzielt.

Die Kulturen wurden durch Injektion von Sputum an Mäusen, zuweilen auch an Kaninchen, gewonnen. In einigen Versuchen wurde hierdurch keine befriedigende Virulenz der Pneumokokken erzielt.

In einigen anderen Serien erschienen die Immunkörper nur dadurch, daß das Postkrisis-Serumtier länger als das entsprechende präkritische lebte. In noch einigen wurden unregelmäßige Resultate erzielt.

Beiträge zur Bestreitung der Kosten für die Untersuchungen habe ich teils aus dem Pasteurschen Forschungsfonds (Gesellschaft Schwedischer Aerzte), teils aus dem Caroline Andriette Nobel-Fond zur Förderung wissenschaftlicher Forschungen (Karolinisches Institut) erhalten.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Wirkungsweise des Antipneumokokkenserums.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität zu Budapest.]

Von Prof. Dr. **Hugo Preisz.**

Die Art und Weise, wie die verschiedenen Immunsera ihre Schutzwirkung ausüben, ist trotz der zahlreichen einschlägigen Forschungen noch immer ein anziehendes Thema der Immunitätslehre, was sich leicht daraus erklärt, daß die Art, sagen wir der Mechanismus dieser Wirkung bei den verschiedenen Seris ein ganz verschiedener sein kann.

Hätte man nach den grundlegenden Forschungen von R. Pfeiffer meinen können, daß die antibakteriellen Sera durch ihr bakteriolytisches Vermögen wirken, so erfuhr man bald durch die Versuche von Denys und Leclef, daß das Antistreptokokkenserum seine Wirkung durch Steigerung der Phagocytose entfaltet. Später konnten Neufeld und Rimpau nachweisen, daß diese, die Phagocytose fördernde Wirkung des Antistreptokokkenserums nicht auf einer Stimulierung der Leukocyten im Sinne Metschnikoffs und seiner Schüler beruht, sondern auf einer Vorbereitung der Kokken zur Phagocytose. Ähnliches fanden die genannten Forscher auch beim Antipneumokokkenserum und bezeichneten die im Serum vorhandenen, die Kokken für die Phagocytose präparierenden (sensibilisierenden) Stoffe als Bakteriotropine.

Die Wirkungsweise des Milzbrandimmunserums prüfend, konnte ich seinerzeit weder eine lytische noch aber phagocytosefördernde Wirkung feststellen.

Man konnte sonach den Mechanismus der Wirkung des Antipneumokokkenserums durch die Arbeiten von Neufeld und Rimpau als im wesentlichen geklärt betrachten. Da erschien (1909) Paul Römers Werk, welches geeignet erschien, die Richtigkeit der Beobachtungen von Neufeld und Rimpau in Frage zu stellen; denn Römer gelangte nach Aufwand vieler Versuche zu dem Schluß, daß das Antipneumokokkenserum keine bakteriotrope Wirkung entfaltet, denn wie immer er auch seine Versuchstiere (Kaninchen, Meerschweinchen) immunisierte, konnte er in deren Blute niemals mehr bakteriotrope Stoffe nachweisen, als in normalen Seris. Nach Römer ist bei mit Serum immunisierten Tieren die Vermehrung der Pneumokokken gehemmt, und sollten sich diese anfangs auch vermehren, so degenerieren sie alsbald und gehen zugrunde, jedoch nicht durch Phagocytose, sondern durch Auflösung außerhalb von Zellen. Er resumiert daher aus seinen Versuchen, daß die Wirkung des Antipneumokokkenserums „antiinfektiös“ sei.

Ich wurde besonders durch diese Ergebnisse Römers dazu bewogen, durch eigene Versuche einen Einblick in diese Verhältnisse zu gewinnen, um so mehr, da ich schon gelegentlich meiner ersten, orientierenden Experimente die Beobachtung machte, daß nach Infektion in die Bauchhöhle eine sehr beträchtliche Phagocytose auch bei nicht immunisierten und daher eingehenden Tieren in Erscheinung tritt, wogegen nach Angabe der Forscher in solchen Fällen gar keine oder eine nur sehr geringe Phagocytose zu beobachten ist. Auch war meines Erachtens noch zu beweisen, daß — falls das Serum wahrhaftig bakteriotrop

wirkt — die Phagocytose es ist, die den infizierten Tierkörper von den lebenden Kokken befreit. Denn obgleich von Neufeld betont wird, daß die bakteriotrope Wirkung *in vitro* und der Schutzwert im Tierversuch bei solchen Seris sich parallel verhalten, so ist damit nicht ausgeschlossen, daß die Schutzwirkung doch nicht auf der phagocytosefördernden Eigenschaft beruht. Denn wie bekannt, bedeutet eine reichliche Phagocytose noch nicht den Untergang der infizierenden Keime und die Heilung der Infektion, wofür als Beispiel die Infektion durch den Mäuseseptikämie- und Schweinerotlaufbacillus erwähnt sein möge.

Um diese Frage zu klären, schienen mir noch Versuche nötig in folgender Hinsicht:

Zunächst muß man sich sagen, daß, wenn das Wesentliche der Schutzwirkung des Antipneumokokkenserums in seiner bakteriotropen Wirkung liegt, mit Immunserum *in vitro* behandelte (sensibilisierte) Pneumokokken ihre Virulenz einbüßen müssen, denn solche Kokken müssen im Tierkörper alsbald von Zellen aufgenommen und vernichtet werden.

Ferner aber, wenn das Wesen der Schutzwirkung hauptsächlich oder lediglich auf der Steigerung der Phagocytose beruht, müssen Pneumokokken ihre Virulenz auch dann eingebüßt haben, wenn sie nicht durch Vermittelung spezifischer Tropine, sondern auf eine beliebige andere Weise phagocytiert worden sind.

Durch meine eigenen Versuche wollte ich zunächst feststellen, ob bei den Serumtieren an der Infektionsstelle eine gesteigerte Phagocytose zu beobachten ist. Dazu dienten mir zumeist graue Mäuse; das Antipneumokokkenserum stammte aus dem Sächsischen Serumwerk (Dresden). Die Versuche wurden derart angestellt, daß die Versuchstiere nachmittags oder abends das Serum unter die Haut erhielten, am nächsten Morgen aber in die Bauchhöhle infiziert wurden. Hernach wurden mittels Glaskapillaren zeitweise aus der Bauchflüssigkeit Proben entnommen.

Bei sämtlichen Versuchen wurden die Proben zur mikroskopischen Untersuchung aus dem Serumtier (resp. Serumexperiment) und aus dem Kontrollversuch stets auf ein und dasselbe Deckgläschen nebeneinander aufgetragen, um durch verschiedene Fixierung und Färbung bedingte Unterschiede auszuschließen. Die Fixierung geschah mittels Methylalkohols oder in der Flamme. Zur Färbung bediente ich mich anfangs des Karbol-Thionins und der Giemsa-Methode, später jedoch ausschließlich der Toluidinblaulösung in Karbolwasser, nachdem ich mich von der Vortrefflichkeit dieser Lösung zu diesem Zwecke überzeugt hatte.

Schon zu Beginn meiner Versuche wurde es mir klar, daß zwischen dem Serumtier und dem Kontrolltier ein augenscheinlicher Unterschied nur bei einer Versuchsanordnung zutage tritt, wo das Serumtier gegenüber dem Kontrolltier am Leben bleibt. Sobald jedoch auch das Serumtier eingeht (weil es zu wenig Serum oder zu viel Virus erhielt), oder aber beide Tiere am Leben bleiben (weil das Virus zu schwach oder zu wenig gewesen), so zeigt sich zwischen Serum- und Kontrolltier kein auffälliger und konsequenter Unterschied.

Ich glaube nicht zu irren, wenn ich den hinsichtlich der Phagocytose negativen Ausfall von Römers Versuchen auf das Außerachtlassen dieses Umstandes zurückführe. Auch vermißt man bei Römers Versuchen eine Zählung der Phagocyten, wo doch eine einfache Abschätzung im mikroskopischen Bilde zu nicht geringen Ungenauigkeiten führen kann.

Bei allen meinen Versuchen, wo das Serumtier dem Kontrolltier gegenüber am Leben blieb, konnte ich bezüglich der Phagocytose einen zweifellosen Unterschied feststellen, wie den folgenden Experimenten zu entnehmen ist.

1. Versuch.

Ein Meerschweinchen erhielt am 27. und 28. Juni 1913 je 3 ccm Immunserum subkutan; am 30. Juni wurde es gleichzeitig mit einem frischen Tier in die Bauchhöhle infiziert.

Serumtier.	Kontrolltier:
Nach 3 Stunden: Ziemlich viel Leukocyten, von 70 enthielten 16 Kokken (= 23 Proz.), freie Kokken nur sehr vereinzelt	— Ziemlich viel Leukocyten, von 67 enthielt eine Kokken (= 1,3 Proz.), viel mehr freie Kokken als beim Serumtier
Nach 7 Std.: Ziemlich viel Leukocyten, von 66 enthielten 6 Kokken (= 9 Proz.), keine freien Kokken	— Ziemlich viel Leukocyten, von 85 enthalten 4 Kokken (= 4,7 Proz.), mehrere freie Kokken pro Gesichtsfeld
Nach 1 Tag: Viel Zellen, Kokken weder in Zellen, noch frei zu sehen	— Viel Zellen, fast in allen Kokken, unzählige freie Kokken
Lebt	† am 2. Juli

2. Versuch.

Eine graue Maus erhielt am 27. und 28. Juni 1913 je 0,2 ccm Serum subkutan und wurde am 30. Juni gleichzeitig mit einer frischen Maus in die Bauchhöhle infiziert.

Serummaus.	Kontrollmaus:
Nach $\frac{1}{4}$ Std.: Viel Leukocyten, unter 44 enthalten 9 Kokken (= 20 Proz.), hier und da freie Kokken	— Viel Leukocyten, in 76 gezählten keine Kokken, frei nicht wenig bekapselte Kokken
Nach 3 Std.: Nicht viel Zellen, in 7 von 64 Kokken (= 11 Proz.), frei nur vereinzelt Kokken	— Weniger Zellen, in keiner Kokken, mehr freie Kokken
Nach 7 Std.: Viel Zellen, Kokken weder in Zellen noch frei	— Noch mehr Zellen, ohne Kokken, viel freie Kokken
Nach 1 Tag: Wenig dicker Saft, viel Zellen, Kokken sicher weder in Zellen noch frei	— Mehr und dünnerer Saft, viel Zellen, alle mit Kokken, unzählige freie Kokken
Maus lebt	† am 1. Juli

3. Versuch.

Aehnlich wie der 2. Versuch. mit dem Unterschiede, daß die Infektion mit einer 5mal kleineren Virusdosis geschah.

Serummaus.	Kontrollmaus.
Nach $\frac{1}{4}$ Std.: Wenig Zellen, von 90 enthalten 15 Kokken (= 17 Proz.), keine freien Kokken	— Wenig Zellen, unter 55 gezählten keine kokkenhaltigen, hier und da freie Kokken
Nach 7 Std.: Viel Zellen, Kokken weder frei noch in Zellen	— Weniger Zellen, in ihnen keine Kokken, einige freie Kokken pro Gesichtsfeld.
Nach 1 Tag: Wenig dicker Saft, nicht viel Zellen, Kokken weder in Zellen noch frei	— Mehr Saft, nicht viel Zellen, in deren wenigen Kokken, nicht wenig freie Kokken mit Kapseln
Lebt	† am 1. Juli

Gleich wie in diesen sah ich auch in anderen Versuchen, bei denen die Kontrolltiere eingegangen waren, stets bei den Serumtieren eine stärkere Phagocytose und weniger freie Kokken als bei den Kontrolltieren. Ähnliches beobachtete ich zuweilen auch dann, wenn das Serumtier zu wenig geschützt war und einige Tage nach dem Kontrolltier einging; hier folgte im Serumtier dem anfänglichen Kokkenschwund später eine Vermehrung der Keime.

Bei genügendem Schutze pflegt das Schicksal des Versuchstieres bereits in den ersten Stunden entschieden zu sein, da — wie aus obigen

Versuchsprotokollen ersichtlich — binnen dieser Frist die Kokken im Serumtier verschwunden sind, während bei den Kontrollen bereits ihre Vermehrung zu verzeichnen ist.

Daß im immunisierten Tier bei der Vernichtung der Kokken außer der Phagocytose auch irgend andere Faktoren tätig wären, etwa durch extracelluläre Abtötung, oder wenigstens Wachstumshemmung der Kokken, dafür fand ich während meiner zahlreichen Beobachtungen keine Anhaltspunkte. Ein Unterschied zwischen den freiliegenden Kokken im peritonealen Exsudat der Serumtiere im Vergleich zu den Kontrollen wurde mir nicht gewahrt; dagegen zeigen von Zellen eingeschlossene Kokken häufig Zeichen der Entartung.

Weitere Versuche sollten mir zeigen, ob die Leukocyten des immunisierten Tieres eine lebhaftere Freßtätigkeit aufweisen, als normale, und ferner, wie bei verschiedenen Versuchsanordnungen im Tiere und in vitro die Phagocytose sich gestaltet.

4. Versuch.

Immun- und Normalleukocyten in vitro. Am 8. und 10. Juli morgens erhielt ein Meerschweinchen je 2 ccm Immunserum subkutan; am 10. Juli erhielt sowohl dieses, wie ein frisches Meerschweinchen je 10 ccm einer 1-proz. Aleuronatbouillon in die Bauchhöhle. Am folgenden Tage wurde aus dem peritonealen Exsudat durch wiederholtes Waschen (Zentrifug.) eine Leukocytenemulsion hergestellt, diese mit Pneumokokken vermischt und die Phagocytose beobachtet; das Maß der letzteren ist in Prozenten ausgedrückt.

	Immunzellen	Normalzellen
Nach $\frac{3}{4}$ Stunde	23 Proz.	0 Proz. ¹⁾
„ 1 Tage	14 „	15 „

5. Versuch.

Ganz ähnlich ausgeführt, wie Versuch 4.

	Immunzellen	Normalzellen
Nach 35 Minuten	16 Proz.	26 Proz.
„ 4 Stunden	28 „	36 „

6. Versuch.

Leukocyten vom Meerschweinchen mit Kokken und Immunserum 1:10; zur Kontrolle desgleichen mit normalem Pferdeserum 1:10.

	Immunserum	Normalserum
Nach 1 Stunde	0 Proz.	0 Proz.
„ 4 Stunden	2 „	6 „
„ 1 Tage	18 „	20 „

7. Versuch.

Ebenso wie Versuch 6.

	Immunserum	Normalserum
Nach $\frac{3}{4}$ Stunde	47 Proz.	12 Proz.
„ 1 Tage	37 „	17 „

8. Versuch.

Phagocytose mit sensibilisierten Kokken in vitro. Pneumokokken wurden 1 Stunde in Immunserum 1:100 gehalten (37°), dann einmal mit 0,8-proz. NaCl gewaschen, dann mit frischen Meerschweinchenleukocyten vermischt bei 37° gehalten. Zur Kontrolle wurden Kokken mit normalem Pferdeserum ähnlich behandelt.

	Immunserumprobe	Normalserumprobe
Nach $\frac{3}{4}$ Stunden	6 Proz.	3 Proz.
„ 1 Tage	44 „	7 „

1) In Anbetracht der nach Verlauf eines Tages gefundenen Zahl sowie der Zahlen im 5. Versuch kann diesem Zählungsergebnis wohl keine Bedeutung zugemessen werden.

9. Versuch.

Tierversuch mit sensibilisierten Kokken. Pneumokokken wurden in Immunserum 1:10 (zur Kontrolle in normalem Pferdeserum 1:10) 40 Minuten belassen, dann gewaschen und Meerschweinchen intraperitoneal verabreicht.

	Immunserumprobe	Normalserumprobe
Nach 50 Minuten	68 Proz.	20 Proz.
„ 4 1/2 Stunden	12 „	9 „
„ 19 „	52 „	58 „
	† nach 19 Stunden	† nach 22 Stunden

10. Versuch.

Infektion in die Aleuronatbauchhöhle. Ein Meerschweinchen erhielt 2 Tage nacheinander je 2 ccm Immunserum, ein Kontrolltier ebenso Normalserum unter die Haut; am 3. Tage erhielten beide Aleuronatbouillon und am 4. Tage Pneumokokken in die Bauchhöhle. Die Phagocytose des Peritonealsaftes war beim

	Immuntier	Kontrolltier
nach 1 Stunde	6 Proz.	5 Proz.
„ 6 Stunden	20 „ lebt	2 „ lebt

Fassen wir die Versuchsergebnisse zusammen, so ersehen wir zunächst aus dem 4. und 5. Versuche, daß die Freßfähigkeit der Leukocyten vom immunisierten Tiere keine lebhaftere ist als jene der normalen Leukocyten, was im Einklange steht mit den Beobachtungen von Denys und Leclef in bezug auf die Streptokokkenimmunität.

Die Ergebnisse des 6. und 7. Versuches ähnlicher Anordnung sind zwar nicht übereinstimmend, doch ist im 7. Versuche die Phagocytose beim Serumtier so auffallend gesteigert, daß dies in Anbetracht der übrigen Versuchsergebnisse wohl als Serumwirkung gedeutet werden kann. Der 6. Versuch fiel zwar in dieser Hinsicht negativ aus, er widerspricht jedoch nicht dem 7. Versuche.

Der 8. Versuch veranschaulicht in auffälliger Weise die bakteriotrope Wirkung des Immunserums; eine ähnliche Wirkung zeigte sich auch im 9. Versuche, jedoch nur in den ersten Stunden, was sich dadurch erklärt, daß die Kokkendosis zu groß gewesen und deshalb auch das Serumtier innerhalb 24 Stunden einging.

Endlich war auch in der Aleuronatbauchhöhle die Phagocytose erhöht, wenn das Versuchstier vorher Immunserum erhielt; daß bei diesem Versuche auch das Kontrolltier am Leben blieb, läßt sich wohl dadurch erklären, daß bereits zur Zeit der Infektion in der Bauchhöhle reichlich Leukocyten in Bereitschaft standen, die die Kokken auch ohne Mitwirkung von spezifischen Tropinen vernichten konnten.

Sämtliche angeführten Versuche bestätigen somit die Befunde der eingangs erwähnten Forscher, wonach das Antipneumokokkenserum eine die Phagocytose sowohl in vitro wie in vivo fördernde Wirkung besitzt und daß diese auf der Einwirkung von spezifischen Stoffen auf die Kokken, nicht aber auf einer Stimulierung oder sonstigen Aenderung der Leukocyten beruht.

Ich habe bereits weiter oben darauf hingedeutet, daß, wenn die bakteriotrope Wirkung das ausschlaggebende Moment der Schutzwirkung des Serums darstellt, so müssen Pneumokokken durch die Behandlung (Sensibilisierung) mittels Immunserums ihre Infektiosität einbüßen.

Ob es sich wirklich so verhält, das sollten folgende Versuche feststellen.

11. Versuch.

Infektion mit sensibilisierten Kokken. Eine 2-tägige Kultur auf Loefflerschem Serum wurde mit dem Kondenswasser abgespült; 0,3 ccm des letzteren wurden mit 0,6 ccm 0,8-proz. NaCl und mit 0,2 ccm Immunserum vermengt. Zur Kontrolle wurde

ein ähnliches Gemenge mit antidiphtherischem Pferdeserum hergestellt, welch letzteres ebenso, wie das Antipneumokokkenserum, 0,5 Proz. Karbolsäure enthielt. Beide Gemenge wurden 1 Stunde bei 37° belassen, dann wurden die Kokken ausgeschleudert und mit je 1 ccm Bouillon aufgeschwemmt. Von beiden Emulsionen bekamen 2 Mäuse je 0,4 ccm intraperitoneal.

Immunserumprobe:

- 1 Std.: Viel Zellen, in 9 Proz. Kokken, einige freie Kokken pro Gesichtsfeld
- 4 Std.: Viel Zellen, in 15 Proz. Kokken, sehr vereinzelt freie Kokken
- 23 Std.: Wenig dicker Saft, viel zerfallende Leukocyten, in einzelnen noch erkennbare Kokken; keine freien Kokken

Gegen Ende des 3. Tages Maus verendet; in der Bauchhöhle viel Zellkerntrümmer, wenig wohlerhaltene Zellen, keine Kokken in denselben, hie und da freie Kokken. — Im Blute Kokken, in den serösen Flüssigkeiten Mucin

Kontrollprobe:

- Viel Zellen, in 0,6 Proz. Kokken, scheinbar mehr freie Kokken
- Viel Zellen, in 8 Proz. Kokken, mehrere Hundert freie Kokken pro Gesichtsfeld
- Maus verendet; viel Leukocyten, fast in allen Kokken; unzählige freie Kokken. — In der perikardialen und pleuralen Flüssigkeit Mucin

12. Versuch.

Ebenso durchgeführt wie Versuch 11, nur geschah die Infektion mit 3mal weniger Virus.

Immunserumprobe:

- 1 Std.: Ziemlich viel Zellen, unzweifelhafte Kokken weder frei noch in Zellen
 - 4 Std.: Kokken weder frei noch in Zellen
 - 23 Std.: Ziemlich viel Zellen, Kokken weder frei noch in Zellen
- Gegen Ende des 5. Tages Maus verendet; im Peritonealsaft: viel Zellkerntrümmer, nur wenig Zellen, in deren einigen Kokken; viel freie Kokken. — In den serösen Säften viel Mucin

Kontrollprobe:

- Ziemlich viel Zellen, keine Kokken darin, 50—200 freie Kokken pro Gesichtsfeld
- Ziemlich viel Zellen, in 2 Proz. Kokken, einige Hundert freie Kokken pro Gesichtsfeld
- Maus verendet; Peritonealsaft ebenso wie bei Kontrollmaus im Versuch 11

Ogleich in den beiden letzten Versuchen auch die mit sensibilisierten Kokken geimpften Tiere eingingen, ist es doch unzweifelhaft, daß die Kokken durch die Sensibilisierung sehr viel von ihrer Gefährlichkeit für die Versuchstiere eingebüßt hatten; dies läßt sich nicht allein daraus ersehen, daß die mit solchen Kokken geimpften Mäuse 2 resp. 4 Tage später starben, als die Kontrollmäuse, sondern auch daraus, daß die sensibilisierten Kokken aus der Bauchhöhle der Mäuse innerhalb des ersten Tages fast gänzlich verschwanden, wogegen sich die nicht sensibilisierten ungeheuer vermehrten und die Tiere bereits innerhalb des ersten Tages töteten. Es läßt sich wohl kaum bezweifeln, daß bei Verwendung kleinerer Impfdosen die sensibilisierten Kokken überhaupt nicht mehr tödlich gewirkt hätten.

Man muß sich fragen, wie es denn komme, daß die sensibilisierten Kokken — besonders im 12. Versuche — letal wirken konnten, wo doch 4 und 23 Stunden nach der Infektion im Peritonealsaft keine Kokken mehr sichtbar gewesen und wo doch mit Serum immunisierte Tiere bei ähnlichem Befunde am Leben zu bleiben pflegen.

Wie ich glaube, läßt sich diese Frage leicht beantworten. Bekanntlich sind sensibilisierte Bakterien noch vermehrungsfähig; gehen also bei solchen Versuchen nicht sämtliche Keime in den ersten Stunden zugrunde, sondern bleiben einzelne am Leben und vermehren sie sich, so

ist die neue Generation schon nicht mehr sensibilisiert, und damit hat sich ihr gegenüber die Freßfähigkeit der Zellen vermindert, die Virulenz der Keime sich aber erhöht. Solch neue Generationen von Kokken konnten im 11. und 12. Versuche den spät erfolgten Tod der Tiere verursachen, trotzdem innerhalb des ersten Tages sämtliche oder fast sämtliche Kokken aus der Bauchhöhle verschwunden schienen. — Demgegenüber werden in einem mit Serum immunisierten Versuchstiere nicht nur die zur Infektion eingeführten Kokken, sondern auch deren Abkömmlinge von den vorhandenen Tropinen fortwährend sensibilisiert und so durch die Phagocyten unschädlich gemacht.

Es scheint mir aber, daß bei protrahierten Pneumokokkeninfektionen auch noch andere Momente mitwirken können, auf die ich noch zurückkommen werde.

Die beiden letztgenannten Versuche zeigen es wohl augenfällig, daß die vom Antipneumokokkenserum in vitro nachweisbare spezifische Wirkung auf die Pneumokokken auch im Tierkörper hinsichtlich der Schutzwirkung des Serums das wesentliche Moment darstellt; eine andere Wirkungsweise des Serums, die z. B. darin bestehen könnte, daß der spezifische Immunistoff im Tierkörper zu einem bakteriziden Stoff wird, oder daß er den Organismus zur Bildung bakterizider Stoffe anregt usw., läßt sich auf Grund dieser Versuche ausschließen, da bei diesen die Immunistoffe lediglich mit den Kokken in Berührung kamen, während der infizierte Organismus frei von Immunistoffen blieb.

Eine gesteigerte Phagocytose war — wenigstens zu Beginn — im 11. Versuche, ebenso wie beim gleichfalls mit sensibilisierten Kokken gemachten Versuch No. 9, entschieden festzustellen; beim 12. Versuche waren dagegen bereits nach 1 Stunde Kokken weder in Zellen noch frei sichtbar, augenscheinlich deshalb, weil die Impfdosis eine geringe war. Der Untergang der Kokken konnte nichtsdestoweniger auch hier mittels Phagocytose geschehen.

Nun steht noch die Frage offen, ob das Antipneumokokkenserum als Schutzmittel seine Rolle ausgespielt hat, indem es die Kokken in die Zellen fördern mithalf, oder ob es auch noch nachher bei der Auflösung und Verdauung der Kokken in den Phagocyten mitwirkt, etwa wie ein hämolytischer Immunkörper (Ambozeptor) die entsprechenden roten Blutzellen zur Auflösung vorbereitet.

Ich versuchte, diese Frage zu lösen, indem ich die Infektiosität solcher Pneumokokken prüfte, die ohne die Mitwirkung von spezifischen Tropinen, also — wie man es zu nennen pflegt — spontan phagocytiert wurden.

13. Versuch.

Gewaschene Leukocyten aus Aleuronatbauchhöhlen von Mäusen wurden mit Pneumokokken vermengt, 3 Stunden bei 37° belassen, dann zwecks Entfernung der freien Kokken 3mal mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen (zentrifugiert). Ein großer Teil der Leukocyten enthielt sodann Kokken. Von einer Emulsion dieser Leukocyten (mit physiologischem NaCl) erhielt je eine Maus 0,3 ccm in die Bauchhöhle, und zwar eine Maus sogleich nach beendetem Waschen der Leukocyten, eine zweite 4 Stunden, eine dritte 16 Stunden später. Die Emulsion wurde stets bei 37° gehalten.

Die erste Maus verendete 24 Stunden, die zweite 38 Stunden nach der Impfung an Pneumokokkensepsis; die dritte Maus blieb am Leben.

14. Versuch.

Ein Meerschweinchen erhielt intraperitoneal eine 16-stündige Pneumokokkenkultur (Loeffler-Serum) verdünnt mit 5 ccm Peptonbouillon. Nach 6 Stunden wurde die Bauchhöhle mit 10 ccm einer 1-proz. warmen Natroncitratlösung ausgespült, die so gewonnene Flüssigkeit 1mal mit Citrat, 4mal mit physiologischem NaCl gewaschen

(zentrifugiert), stets warm. In der so gewonnenen Emulsion enthielten 28 Proz. der Leukocyten Kokken, während freiliegende Kokken kaum zu sehen waren. — Von dieser Emulsion erhielten Mäuse intraperitoneal 0,5 ccm, und zwar, von der Entnahme der Leukocyten gerechnet, nach 2 und nach 3 $\frac{1}{2}$ Stunden; beide Mäuse gingen nach 30 bis 36 Stunden an Pneumokokkensepsis ein. — Nach 18 Stunden wurde die Emulsion behufs Entfernung der mittlerweile etwa vermehrten freiliegenden Kokken 1mal mit NaCl-Lösung gewaschen. Unter dem Mikroskop zeigten sich die Leukocyten nun bereits ziemlich stark verändert, ihr Protoplasma nach außen zernagt, die Konturen der Kerne verschwommen, Kokken aber konnten nur mehr in einer minderen Anzahl der Zellen gesehen werden. Nun (= 18 Stunden) wurde wieder eine Maus geimpft mit einer Dosis, die 0,5 ccm der Originalemulsion entsprach; die Maus blieb am Leben. — Nach 26 Stunden wurde wieder geimpft; die Maus verendete zwar nach 5 Tagen, es konnten aber darin keine Kokken nachgewiesen werden. — Endlich wurde nach 43 Stunden die Emulsion abermals gewaschen und mit der entsprechenden Dosis eine Maus geimpft. Zu dieser Zeit konnten in den Zellen Kokken nur mehr mit der Gramschen Färbung hie und da sichtbar gemacht werden. — Die Maus blieb am Leben.

Aus diesen Versuchsergebnissen geht hervor, daß auch ohne Mitwirkung spezifischer Immunstoffe (Tropine) phagocytierte Pneumokokken in den Phagocyten zugrunde gehen und schon binnen kurzem, so im Versuch No. 18 bereits nach 16 Stunden, für die sonst sehr empfänglichen Versuchstiere gefahrlos werden können. Es folgt hieraus, daß die bakteriotrope Wirkung des Antipneumokokkenserums allein hinreicht, um die Schutzwirkung des letzteren zu erklären. Der Untergang der Pneumokokken in den Phagocyten war nicht nur durch den Tierversuch, sondern auch durch das Mikroskop nachzuweisen.

Nach meinen Versuchsergebnissen kann es nicht zweifelhaft sein, daß das Antipneumokokkenserum seine Schutzwirkung entfaltet, indem seine spezifischen Immunstoffe (Tropine) die Pneumokokken für die Phagocytose vorbereiten, so wie dies für das Antistreptokokkenserum zuerst von Neufeld und Rimpau nachgewiesen wurde. Daß hierin der einzige oder wenigstens der ausschlaggebende Faktor der Immunserumwirkung liegt, bewies nicht nur die gesteigerte Phagocytose bei Versuchen sowohl an Tieren wie in vitro, sondern auch die bedeutende Abnahme bzw. der völlige Schwund der Infektiosität der phagocytierten Kokken, gleichviel ob die Phagocytose infolge von spezifischen Tropinen oder ohne solche vor sich gegangen ist.

Damit, daß es die Aufnahme der Pneumokokken durch Phagocyten bewerkstelligte, hat das Immunserum seine Rolle beendet, denn in den Phagocyten gehen die Kokken auch ohne die Mitwirkung von Immunstoffen unter.

Es werden sonach, wie man annehmen muß, durch die spezifischen Immunstoffe (Tropine) des Serums solche Stoffe der Kokken gelähmt, mit deren Hilfe sie sonst die Phagocyten von sich fernhalten und die das Wesen ihrer Virulenz bilden. Vom theoretischen Standpunkte aus wäre man eigentlich nicht genötigt, als solchen Träger der Virulenz gewisse chemische Gruppen oder Ketten im Kokkenleibe anzunehmen, da es denkbar wäre, daß das den Kokkenleib konstituierende Protoplasma als solches nicht, wohl aber nach dem Anhaften der Tropine phagocytierbar ist. Wenn wir aber sehen, daß es leicht und minder leicht phagocytierbare Pneumokokkenstämme gibt, und daß ein Antiserum um so wirksamer ist, je virulenter der Stamm gewesen, womit es erzeugt wurde, und endlich, daß es Pneumokokkenstämme gibt, gegen die ein sonst wirksames Serum nicht zu schützen vermag, so scheint es doch wahrscheinlicher, daß der Träger der Virulenz nur eine Gruppe oder ein Stoffwechselprodukt des *Pneumococcus* darstellt.

Diese chemische Gruppe, bzw. dieses Produkt würde sonach das Antigen der Tropine darstellen, und würde durch letztere in seiner die Phagocytose lähmenden Wirkung gehemmt.

Um eventuellen Mißverständnissen vorzubeugen, möchte ich folgendes bemerken: Von Römer wird betont, daß zu dergleichen Versuchen keine Kokkenstämme verwendet werden dürfen, die bereits spontan (in physiologischer NaCl-Lösung) stark phagocytiert werden; ferner machten schon Neufeld und Haendel, sowie Ungermann die Beobachtung, daß es Pneumokokkenstämme gebe, deren Phagocytose durch das Immunserum weder in vitro noch im Tierkörper beeinflußt werden konnte.

Ich brauchte diesen Verhältnissen natürlich keine besondere Aufmerksamkeit zu schenken; da meine Versuche den Zweck hatten, den Unterschied im Verhalten der Kokken beim immunisierten und nicht immunisierten Tier zu erforschen, so hatte ich bloß darauf zu achten, daß meine Kokkenstämme zu töten, und das Serum gegen sie zu schützen vermöge. Solche Stämme wurden bei meinen Versuchen auch in vitro ausschließlich verwendet.

Bei meinen angeführten Versuchen verfolgte ich bloß das Verhalten der Kokken in der Bauchhöhle der Versuchstiere. Es ist jedoch kaum zweifelhaft, daß die im Wege der Blutbahn in die verschiedenen Organe gelangten Kokken ein gleiches Schicksal haben; denn nur so ist es verständlich, daß die immunisierten Tiere am Leben bleiben, trotzdem das Blut von intraperitoneal infizierten Tieren bereits wenige Stunden nachher reichlich Kokken zu enthalten pflegt, wie aus folgenden Versuchen ersichtlich ist:

Immunisierte und Kontrollmäuse wurden gleichzeitig und mit gleichen Dosen intraperitoneal geimpft, dann nach gleichen Zeitintervallen geopfert und ihr Blut mittels Anlegung von Agarkulturen untersucht. Das Blut der immunisierten Mäuse erwies sich nach 2 resp. 4 Stunden frei von Kokken, während jenes der Kontrolltiere gleichfalls nach 2 und 4 Stunden reichlich Keime enthielt.

Wiederholt kam es mir bei meinen Tierversuchen vor, daß die Serumtiere (sowohl Mäuse wie Meerschweinchen) um Tage früher eingingen als die Kontrolltiere, ja, daß eben nur die Serumtiere eingingen. Da die Versuchsanordnung auch in solchen Fällen die gewöhnliche gewesen, so läßt sich das paradoxe Ergebnis schwer deuten. Römer erwähnt eine ähnliche Beobachtung; er sah nämlich zuweilen nach größeren Serumdosen die Versuchstiere eingehen, wo kleinere Dosen schützten. Man könnte meinen, daß in gewissen Fällen, namentlich bei Darreichung großer Serumdosen, die Kokken rasch aufgelöst und dadurch schädliche Zerfallsprodukte gebildet werden, wie z. B. bei ähnlichen Experimenten mit Choleravibrionen und Immunserum. Diese Annahme ist aber hier nicht zutreffend, denn das Antipneumokokkenserum ist nicht bakteriolytischer Natur, ferner ist der *Pneumococcus* kein toxisches Bakterium, wie aus Lindemanns Versuchen hervorgeht. Dieser Forscher fand die in 50—100 ccm Serumbouillon gewachsene Pneumokokkenmasse nicht einmal für eine Maus tödlich, obgleich die Kokken im Tierkörper einer raschen Auflösung anheimfielen. Endlich aber handelte es sich bei meinen paradoxen Versuchsergebnissen gewiß nicht um reine Intoxikation, denn die Serumtiere starben an einer Pneumokokkenseptikämie.

Während meiner Phagocytoseversuche in vitro sah ich jedoch zuweilen eine Erscheinung, die mit dem rascheren oder ausschließlichen Hinsterven der Serumtiere in ursächlichen Zusammenhang gebracht

werden könnte. Diese Erscheinung bestand darin, daß in den Immunsersumproben die Pneumokokken — im Gegensatz zu den Kontrollproben — nicht allein tagelang stark agglutiniert blieben, sondern auch von ganz entschieden dickeren Kapseln umgeben waren. Nun sind aber Kokken inmitten von Agglutinationshäufchen sowohl gegen gelöste antibakterielle Stoffe, wie gegen die Einwirkung von Phagocyten geschützt, ferner bieten breite Kapseln — wie z. B. beim Milzbrandbacillus zu beobachten ist — der Phagocytose ein nicht geringes Hindernis.

Vielleicht erklärt es sich auf diese Weise, daß z. B. bei einem meiner Versuche das Serummeerschweinchen erst 15 Tage nach der Infektion an Pneumokokkensepsis einging, wogegen das Kontrolltier am Leben blieb. Allerdings muß noch immer eine besondere, vielleicht individuelle Eigentümlichkeit der betreffenden Versuchstiere angenommen werden, um das ausnahmsweise Vorkommen solch paradoxer Versuchsergebnisse verstehen zu können.

Ferner möchte ich hier auch einiger Beobachtungen gedenken, die nicht uninteressant sein dürften.

Gelegentlich meiner Studien über die Wirkungsweise des Milzbrandimmunserums konnte ich die überraschende Tatsache konstatieren, daß ein Stückchen Seidenfaden, nachdem es einen Tag in der Subcutis einer mit Serum immunisierten Maus verweilte und nachher, mit sporenlosen Milzbrandbacillen getränkt, unter die Haut einer frischen Maus versetzt wird, keinen tödlichen Effekt ausübt, wogegen ein in der Subcutis einer normalen Maus belassener Faden unter ähnlichen Verhältnissen stets tödlich wirkte. Ich war seinerzeit bemüht, diese Erscheinung verständlich zu machen; nun aber unternahm ich bezüglich des Antipneumokokkenserums ähnliche Versuche, jedoch stets mit negativem Resultat. Die im Serumtier einen Tag belassenen und dann mit Pneumokokken getränkten Fäden töteten stets die Versuchstiere. Die verschiedene Wirkungsweise verschiedener Sera kommt somit auch bei diesem Versuch zum Ausdruck.

Oft sah ich einen augenfälligen Unterschied zwischen den Leukocyten der Serum- und Kontrolltiere; die Leukocyten vom Serumtier waren nämlich größer, wie gequollen, schwächer gefärbt, ihr Protoplasma erschien wie aufgelockert und vakuolisiert. Ich versuche es nicht, diesen Befund zu erklären, möchte aber daran erinnern, daß ich ein ähnliches Verhalten der Leukocyten seinerzeit auch bei Milzbrandserumtieren beobachtet hatte.

Endlich möchte ich noch in Kürze auf jene protrahierten Fälle zurückkommen, wo die Serumtiere die Kontrollen zwar überleben, endlich aber dennoch eingehen.

Die mit dem Serum eingeführten Schutzstoffe (Tropine) verbreiten sich alsbald im ganzen Organismus, schwinden aber aus demselben allmählich, womit sich auch der Schutz von Tag zu Tag verringert. Hierdurch wird der tödliche Ausgang in solchen Fällen verständlich, wo im Serumtier infolge gewisser Ursachen (Agglutination, Kapseln) einzelne Pneumokokken längere Zeit (1—2 Wochen) am Leben bleiben und sich nun, nachdem die Schutzstoffe den Tierkörper bereits verlassen, wieder ungehindert vermehren können. So ließe sich das bereits oben berührte Experiment deuten, wo das Serummeerschweinchen erst 15 Tage nach der Infektion einging.

Es dürfte aber auch noch andere Momente geben, die eine Rolle spielen bei protrahierten, d. h. solchen Fällen, wo der Kampf zwischen

Kokken und infiziertem Organismus nicht in Kürze entschieden wird, sondern ein Teil der Kokken längere Zeit am Leben bleibt, um sich später rasch zu vermehren. Als solche Momente betrachte ich die Erschöpfung der Zellauswanderung und damit auch der Freßfähigkeit der Leukocyten wenigstens an der Infektionsstelle, ferner die allmähliche Anhäufung des von den Kokkenkapseln stammenden Mucinstoffes im infizierten Organismus.

Auf eine Erschöpfung der Phagocytose scheinen solche Fälle hinzuweisen, wie die der mit sensibilisierten Kokken geimpften Mäuse im 11. und 12. Versuche, welche erst nach 3 resp. 5 Tagen eingingen und bei denen zu dieser Zeit in der Bauchhöhle viel zerfallene Zellen und Zellkerne, aber nur wenige wohlerhaltene Zellen vorhanden gewesen. Es ist wohl anzunehmen, daß ein solches, vornehmlich aus zerfallenen Zellen bestehendes Exsudat den Kokken gegenüber weniger aktiv wirkt, als die Zellen eines frischen Exsudates.

Allerdings tritt auch im Verlaufe jeder tödlichen Pneumokokkeninfektion eine Aenderung der Bedingungen der Phagocytose ein, denn nur so erklärt es sich, daß gegen Ende der Infektion, da bereits eine starke Vermehrung der Kokken stattgefunden hat, oft alle oder fast alle Leukocyten des Exsudates von Pneumokokken erfüllt sind. Offenbar kommt dieser Phagocytose nicht jene Bedeutung zu, wie der zu Beginn der Infektion bei immunisierten Tieren zu beobachtenden, sowie auch ihre Ursache eine gewiß ganz andere sein muß.

Was die mucinöse Kapselsubstanz der Pneumokokken anbelangt, so konnte ich dieselbe im Blute und in anderen Säften aller an Pneumokokkeninfektion eingegangenen Versuchstiere nachweisen. Am einfachsten überzeugt man sich von ihrer Gegenwart, indem man einen Tropfen Blutserums oder einer serösen Flüssigkeit in einem Glasschälchen auf schwarzer Unterlage mit einem Tropfen einer Essigsäurelösung vermengt; es erfolgt eine weißliche, flockige Trübung.

Nachdem ich seinerzeit nachgewiesen habe, daß der gleichfalls mucinartige Stoff der Kapseln des Milzbrandbacillus in den Säften von Milzbrandleichen stets vorhanden ist, ferner daß während der Milzbrandinfektion bei Kaninchen die Anthracozidie des Blutserums in dem Maße abnimmt, wie dieser mucinöse Stoff (das Anthracomucin) sich im Blute mehr und mehr anhäuft, so denke ich an die Möglichkeit, daß dieser Mucinstoff auch bei der Pneumokokkeninfektion eine Rolle spielt in dem Sinne, daß eine allgemeine, tödliche Invasion der Kokken erst dann erfolgen kann, wenn vorher die Anhäufung des Mucins im Organismus einen gewissen Grad erreicht hat.

Indeß müssen weitere Versuche beweisen, ob dem Kapselstoff bei der Pneumokokkeninfektion tatsächlich eine solche Rolle zukommt. Dabei steht man allerdings der großen Schwierigkeit gegenüber, womit die Herstellung, d. h. die Trennung dieses Kapselstoffes von den Kokken in unverändertem (nativem) Zustande verbunden ist.

Literatur.

- Kolle u. Wassermann, Handbuch d. path. Mikroorg. 1913. Bd. 2. Kap. 4, 5, 7. (Bakterizide Sera, Tropine, Phagocytose.)
 —, Ebenda. Bd. 4. Kapitel: Pneumokokken von Neufeld und Händel.
 Denys et Leclef, La Cellule. 1895.
 Bordet, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897.
 Neufeld u. Rimpau, Ueber die Antikörper des Streptokokken- und Pneumokokkenserums. (Deutsche med. Wochenschr. 1904.)

- Römer, P., Experimentelle und klinische Grundlagen für die Serumtherapie der Pneumokokkeninfektion der menschlichen Cornea. Wiesbaden 1909.
 Neufeld u. Rimpau, Weitere Mitteilungen über die Immunität gegen Strepto- und Pneumokokken. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 51. 1905.)
 Ungermann, Beiträge zur Kenntnis der Pneumokokkenimmunität etc. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 5. 1910.)
 Lindemann, Beiträge zur Kenntnis der Pneumokokkeninfektion. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 38. 1912.)
 Neufeld u. Haendel, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. T. 1. Bd. 3.
 Preisz, Experimentelle Studien über Virulenz, Empfänglichkeit und Immunität beim Milzbrand. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung des Indols auf Typhusbacillenkulturen als Grundlage für therapeutische Versuche.

[Vorläufige Mitteilung aus dem k. k. böhm. Hygien. Institute und dem
k. k. Epidemielaboratorium im Felde No. 6.]

Von M.U. Dr. **Josef Roček,**

Assistenten des böhm. Hyg. Institutes, derzeit k. k. Landsturmassistenzarzt.

Ich habe mich mit dem Studium der Einwirkung der Stoffwechselprodukte verschiedener Bakterienkulturen auf eigene und fremde Species befaßt.

Interessant zeigte sich die Einwirkung des Indols, als Produkt des *B. coli communis* und *Vibrio cholerae asiaticae*, auf fremde Species, welche Indol nicht bilden, besonders auf *B. typhi* und *dysenteriae*.

Ich habe in einer Reihe von Parallelversuchen die Einwirkung von Indol (kristallisiertes Präparat Merck) auf *B. coli* und *typhi* geprüft.

Vor allem war es wichtig, die Lösungsverhältnisse des Indols, über welche ich in der Literatur keine genauen Angaben finden konnte, festzustellen. Indol ist in Alkohol leicht löslich, im Wasser aber nur sehr gering, und zwar besser im warmen als im kalten. Annähernd bildet 1 g Indol in 1 ccm 96-proz. Alkohol bei 18° C eine gesättigte Lösung, aus welcher sich dasselbe beim Abkühlen kristallinisch ausscheidet. Die Löslichkeit im Wasser bei 20° C beträgt ca. 1:500, aber nur in dem Falle, wenn alkoholische Indollösung zum Wasser unter fortwährendem Durchschütteln tropfenweise zugesetzt wird.

Nachdem ich diese Lösungsverhältnisse festgestellt hatte, setzte ich verschiedene genau dosierte Mengen von alkoholischer Indollösung Nährböden zu, die ich nach diesem Zusatz mit verschiedenen Kulturen beimpfte.

Aus zahlreichen ähnlichen Versuchen ergab sich die Grenze der antiseptischen Wirkung des Indols gegen verschiedene Kulturen, die selbstverständlich gegen verschiedene geprüfte Species verschieden war. Allgemein vertragen Indolbildner (*B. coli*, *V. cholerae*) Indol besser als Indol nicht bildende Species (*B. typhi* und *dysenteriae*).

Ein Zusatz von 0,00417 g Indol zu 10 ccm eines Nährbodens (Agar, Bouillon) genügt, um das Wachstum der Typhusbacillen vollständig zu hemmen, dagegen gedeiht *Bacterium coli* noch bei dieser Konzentration ziemlich üppig. Höhere Indolkonzentration hemmt überhaupt

das mikrobische Wachstum, ja wirkt sogar desinfizierend auf vorher gewachsene Kulturen, was ich auch in einigen Versuchen festgestellt habe.

Wie schon oben gesagt, wurde bei diesen Versuchen Indol in alkoholischer Lösung dosiert; die Wirkung des Alkohols wurde stets durch Kontrollversuche ausgeschlossen.

Diese besondere Empfindlichkeit des *Bacterium typhi* gegen Indol hat mich veranlaßt, festzustellen, ob Stühle von Typhuskranken und Typhusbacillenträgern Indol, diesen normalen Bestandteil der Faeces, enthalten. Ich habe Alkoholextrakt von 17 bakteriologisch positiven Typhusfällen und 30 normalen Stühlen mittels der Salkowski- und Ehrlich-Boehmschen Reaktion auf Indol untersucht, und in keinem Falle in Typhusstühlen Indol vorgefunden, dagegen wurde Indol in der Mehrzahl der normalen Stühle (3 ausgenommen) nachgewiesen.

Aus den angeführten Versuchen ergeben sich also folgende Tatsachen:

1) Daß Indol auch in kleinen Konzentrationen das Wachstum der Typhusbacillen zurückhält, in stärkeren Konzentrationen auf dieselben sogar abtötend wirkt;

2) Daß Typhusstühle mit positivem bakteriologischen Befund Indol nicht enthalten.

Aus diesen Tatsachen ergab sich die Schlußfolgerung, daß eine Ursache der Möglichkeit der langen Beherbergung der Typhusbacillen bei Bacillenträgern (selbstverständlich die Gallenblase ausgenommen) im Fehlen dieses normalen Faecesbestandteiles zu suchen wäre, da dadurch die Darmhöhle für langes Verweilen der Typhusbacillen geeignet ist.

Daraus ergibt sich auch der theoretische Impuls, Indol therapeutisch anzuwenden. Die zur Hemmung der Typhusbacillen im Darminhalte nötige Konzentration ist auf Grund der hier angeführten Versuche als 0,417 g Indol auf je 100 ccm der eingenommenen Flüssigkeit, rund 0,5 g Indol auf 1 Liter, zu betrachten.

Angenommen, daß täglich ca. 2 Liter Flüssigkeit (Milch etc.) bei Typhuskranken und Rekonvaleszenten verabreicht werden, wäre die pro die eingenommene Indolmenge 1 g.

Diese auf das Körpergewicht umgerechnete, 10-fach vergrößerte Dosis injizierte ich auf einmal subkutan und intraperitoneal einer Reihe von Meerschweinchen und Kaninchen, ohne aber irgendwelche pathologische Symptome und schädliche Wirkungen bemerken zu können. Die Versuchstiere blieben immer vollständig und dauernd gesund. Auch bei Hunden vom Körpergewichte 2,5–8 kg zeigte sich eine Dosis von 0,5 g Indol per os, auf einmal genommen, vollständig unschädlich.

Meiner Ansicht nach wäre es am besten, die therapeutische Anwendung des Indols bei Typhuskranken und Bacillenträgern in folgender Weise durchzuführen: Zu jedem Liter der eingenommenen Flüssigkeit wäre es nötig, 0,5 g Indol in folgender Form zuzusetzen:

Rp.
Indoli cryst. (Merck) g 0,5
Spir. vini conc. „ 1–2
F. S.
Aq. dest. „ 100

Das Wasser darf nicht zu kalt sein, damit nach kräftigem Durchschütteln feine Emulsion entsteht. Nach dem Zusatz dieser Emulsion zu 1 Liter der eingenommenen Flüssigkeit und kräftigem Durchschütteln entsteht auch bei Benützung von kalten Flüssigkeiten eine fast klare Lösung.

Mit Rücksicht auf die Tierversuche, soweit man diese in Analogie ziehen kann, wäre die tägliche Dosis von 1 g für den Menschen als unschädlich zu betrachten, um so mehr, da es sich um einen normalen Bestandteil des Darminhaltes bei Gesunden handelt.

Da ich keine Gelegenheit habe und mich als Bakteriolog nicht berufen fühle, diese Indoltherapie praktisch prüfen zu können, lege ich diese vorläufige Mitteilung meiner Versuche dem Forum der Internisten früher und weniger durchgearbeitet, als ich es in normalen Verhältnissen tun würde, vor.

Ich hoffe, daß Aerzte, welche für diese theoretische Methode Interesse und Gelegenheit finden, dieselbe praktisch zu prüfen, bei Anwendung von kleinen Dosen und bei Einhaltung aller Vorsichtsmaßregeln zu der Ueberzeugung gelangen werden, daß eine tägliche Dosis von 1 g Indol völlig unschädlich ist, und daß es möglich sein wird, bakteriologisch festzustellen, ob dieser Stoff dieselbe Wirkung auf Typhus- und Dysenteriebacillen im Verdauungstrakte ausübt, welche ich in vitro beobachtet habe.

Nachdruck verboten.

Ueber Säureagglutination von Pestbacillen.

[Aus dem staatlichen Laboratorium für medizinische Diagnostik in Triest.]

Von **J. G. Markl**, Mediziner.

Nachdem Leonor Michaelis die Säureagglutination von Bakterien überhaupt, insbesondere aber der Typhusbakterien — und letzteres mit praktischem Erfolge — versucht hatte, waren einander eine Reihe von Arbeiten über dieses Thema gefolgt, die sich vor allem mit der Typhus-Paratyphus-Coli-Gruppe beschäftigten. Es sind das die Untersuchungen von Michaelis' Assistenten Beniasch, von Willy Heilmann, Poppe, H. Schidorsky und W. Rein, L. R. Grote, um nur die wichtigsten zu nennen.

Nachdem nun diese unspezifische Reaktion ihre praktische Verwertbarkeit als diagnostisches Hilfsmittel bei Feststellung von Typhus und Paratyphus auch bei der Ueberprüfung in unserem Laboratorium bewiesen hatte, versuchte ich, sie für die Pestdiagnose dienstbar zu machen.

Ich hatte festzustellen: erstens, ob die Identifikation von Reinkulturen mit Hilfe der Säureagglutination bei Pest gelingt; zweitens versuchte ich, den Organbrei von an Pest eingegangenen Ratten direkt der Säureagglutination zu unterwerfen. Aehnlich hatten ja auch H. Schidorsky und W. Rein versucht, für die Typhusdiagnose Stuhlaufschwemmungen der Säureagglutination zu unterziehen, angeblich mit Erfolg, den aber Heilmann bestreitet. Freilich hat dieses Verfahren, wie weiter unten sofort klar werden wird, eine theoretisch ungünstige Prognose, und so war die Wahrscheinlichkeit des Gelingens von vornherein nicht groß, aber nicht ausgeschlossen. Gleichwohl ist aber die Feststellung von Pestorganen durch Säureagglutination des Organbreies, wie ich weiter unten ausführen werde, nicht möglich — ein Gegensatz zu dem Erfolge auf dem von Piras beschrittenen Wege durch die spezifische Präzipitinreaktion, über deren Sicherheit zurzeit die Meinungen noch geteilt sind.

Bevor ich über meine Versuche berichte, noch einige wenige Worte zur Theorie der Reaktion, über die von vielen Autoren vieles, oft wenig Uebersichtliches geschrieben worden ist. Ich will mich aber darauf beschränken, nur den Hauptgedanken in den Grundzügen zu entwickeln, da ja Einzelheiten und den feineren Bau der Theorie die Arbeit von Beniasch enthält und ich bereits besser Gesagtes, soweit sich das vermeiden läßt, nicht wiederholen möchte.

W. B. Hardy¹⁾ hat gezeigt, daß Proteine (von denen die Säureagglutination nach anderen Untersuchungen abhängt) elektroamphotere Kolloide darstellen, also, je nach der Reaktion ihrer Lösung, sich verschieden elektrisch verhalten, und zwar in sauren Lösungen wie Kationen, in alkalischen wie Anionen.

Ferner zeigte Hardy, daß sie von den entgegengesetzten Ionen gefällt werden. Wenn sie sich also z. B. in alkalischer Lösung als Anion verhalten, werden sie aus dieser Lösung durch das entgegengesetzte Ion, das Kation, gefällt. Das gleiche gilt für saure Lösung mit Reversion der elektrischen Zeichen.

Die Erklärung für dieses Verhalten gab W. C. D. Whetham²⁾; eine Erklärung, die um so wahrscheinlicher ist, da ja auf derselben Basis auch sein rein mathematisch abgeleiteter Beweis der Schultzeschen Wertigkeitsregel — eine Beziehung zwischen der Fällungskraft der Salze für Kolloide und der Wertigkeit der Salze — fußt. Whetham nimmt an, daß auf der Oberfläche der Kolloidpartikel eine doppelte elektrische Schicht ihren Sitz hat, daß die Partikel in alkalischer Lösung negativ geladen sind und deshalb als Anionen zum positiven Pol wandern. Mit der Reaktion wechselt die Ladung und mit ihr das kataphoretische Verhalten. Deshalb in saurer Lösung der umgekehrte Fall.

Die elektrische Ladung der Partikel bewirkt die Beständigkeit der Kolloidlösung, da in diesem Zustand die Oberflächenenergie gering ist und sich daher ein System ausbildet mit größter Oberfläche, d. h. die Kolloidlösung. Diese Ladung der Partikel kann aber durch entgegengesetzte Ionen neutralisiert werden, was ein Verschwinden der elektrischen Doppelschicht zur Folge hat und damit eine Erhöhung der Oberflächenenergie. Dies bewirkt aber, daß jetzt die einzelnen Kolloidpartikelchen sich zu größeren Aggregaten vereinigen, die schließlich der Schwerkraft unterstehen und ausfallen. Das ist die Flockung. Sie erfolgt am isoelektrischen Punkt, d. h. wenn die Ladung der Kolloidpartikel durch Zusatz von entgegengesetzt geladenen Ionen — z. B. Wasserstoffionen $[H^+]$ zu negativ geladenen Kolloidpartikeln — neutralisiert worden ist.

L. Michaelis nun hat gezeigt, daß dieser isoelektrische Punkt für verschiedene Eiweiße (Albumine, Globuline, Nukleoproteide, aber auch für Lipide — alle diese wurden bis jetzt untersucht und für sie fällt der isoelektrische Punkt mit dem Koagulationsoptimum zusammen —) ein verschiedener ist und sich daher durch eine bestimmte Konzentration von H^+ , die die oben erwähnte Ladung der Partikelchen neutralisiert, eindeutig bestimmen läßt.

Wenn dem so ist, so ist damit auch die Möglichkeit einer Reaktion auf die früher genannten Körper gegeben, indem jeder bei einer gegebenen H^+ -Konzentration, d. h. im Punkte seiner optimalen Azidität, wo seine Ladung neutralisiert ist, aus der Lösung fallen wird.

Untersuchungen von Neisser und Friedemann haben nun gezeigt, daß sich Bakteriensuspensionen Säuren gegenüber wie elektronegative Suspensionskolloide verhalten, deren negative Ladung durch H^+ neutralisiert werden kann, was der oben entwickelten Theorie zufolge Aggregation zu größeren Massen und Ausfallen nach sich zieht und als Agglutination sichtbar wird. Die wichtigste Rolle spielen bei diesem Vorgange die Proteine des Bakteriums, deren negative Ladung bei einer optimalen Azidität der Lösung neutralisiert ist. Die Autoren haben gezeigt, daß das Koagulationsoptimum mit dem isoelektrischen Punkt der Proteine zusammenfällt.

Dieser isoelektrische Punkt nun liegt für verschiedene Bakterien bei einer verschiedenen H^+ -Konzentration, was durch die verschiedene Zusammensetzung verschiedener Bakterien bedingt ist.

Aus diesen Erwägungen geht hervor, daß die optimale Agglutinationsazidität für ein Bakterium ein Charakteristikum darstellt, das durch eine bestimmte Konzentration an H^+ -Ionen definiert ist, und das als Säureagglutination von L. Michaelis als

1) Hardy, W. B., Journ. of Physiol. Vol. 24. p. 288; vgl. auch Robertson, Die physikal. Chemie der Proteine.

2) Whetham, W. C. D., Philos. Magaz. Vol. 48. 1899. p. 474; Hardy and Whetham, W. C. D., Journ. Physiol. Vol. 23. 1899. p. 288.

3) $H^+ =$ Wasserstoffion.

diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung des Bakteriums benutzt wurde und für die Typhusdiagnose praktischen Wert bereits gewonnen hat. Freilich wird diese aspezifische Reaktion nur für diejenigen Bakterien diagnostisch verwertbar sein, als diese eine durch die Konzentration von H^+ gegebene optimale Agglutinationsazidität besitzen, die sich von der anderer ähnlicher Bakterien unterscheidet.

Aus dieser Darlegung wird schon klar geworden sein, warum die zweite Reihe meiner Versuche, Organemulsionen der Agglutination zu unterwerfen, nicht besonders aussichtsreich war. Es sind ja darin so viele bei ihrem isoelektrischen Punkt ausfallende Körper (Albumine, Globuline, Proteine, Lipoide) enthalten, daß die sicherlich in der Minderzahl vorhandenen Pestbacillen durch ihre besondere Zusammensetzung das Agglutinationsoptimum dieser Aufschwemmung kaum beeinflussen können. Sie kommen wahrscheinlich gar nicht in Rechnung, so daß das Agglutinationsoptimum einer solchen Aufschwemmung durch jenes der fallenden Körper der Mehrzahl gegeben ist. Außerdem kann auch durch die in den Gewebesäften enthaltenen Salze die berechnete H^+ -Konzentration verschoben werden. Damit stimmen nun — wie ich hier vorwegnehmen will — die Resultate meiner zweiten Versuchsreihe, indem die Emulsionen von Pest- wie von Normalorganen dieselben Optima der H^+ -Konzentration haben, bei denen sie ausfallen.

Nach diesen theoretischen Erwägungen, die zum Verständnis mir notwendig schienen, nun zu meinen eigentlichen Versuchen und Ergebnissen.

Technik.

Die fällenden Konzentrationen von Wasserstoffionen wurden nach der bekannten Formel: $H^+ = \frac{\text{Säure}}{\text{Alkalisalz}} \cdot k$ hergestellt, worin k die Dissoziationskonstante der verwendeten Säure bedeutet. Ich arbeitete ausschließlich mit dem Acetatregulator, verwendete also Essigsäure und ihr Na-Salz. Für Essigsäure ist $k = 1,8 \cdot 10^{-5}$. Wegen der unvollständigen Dissoziation des Natriumacetats aber ist den Berechnungen der korrigierte Wert von $k = 2 \cdot 10^{-5}$ zugrunde gelegt. Da die Salze eine hemmende Wirkung auf die Agglutination ausüben, habe auch ich, wie Beniasch, den Wert von 5 ccm $\frac{1}{10}$ n-Salz konstant gesetzt. Da nun k eine Konstante ist, kann man durch Variation der Säuremenge alle beliebigen Konzentrationen von H^+ herstellen. Ich setzte also zu den 5 ccm $\frac{1}{10}$ n-Salz jedesmal die berechnete Säuremenge. Dann wurde jede Lösung mit Aq. dest. auf das Volumen von 70 ccm gebracht, da innerhalb der hier in Betracht kommenden Grenzen die Verdünnung die H^+ -Konzentration ungeändert läßt, von welcher allein die Reaktion abhängt.

Zur Konservierung der Lösungen setzt man einen kleinen Kristall Thymol zu.

So habe ich 10 Stammlösungen hergestellt, deren jede ihren berechneten Gehalt an H^+ hatte, so daß Konzentrationen von $1 \cdot 10^{-5}$, $2 \cdot 10^{-5}$, $4 \cdot 10^{-5}$... bis $5,2 \cdot 10^{-8}$, also in geometrischer Reihe aufsteigend, vorhanden waren. Diese Ausdehnung der Reihe war genügend, wie sich in den Versuchen zeigte, da sowohl die Anfangs- wie die Endglieder (vgl. folgende Tabelle) stets agglutinationsfrei waren. Eine feinere Abstufung ist auch nicht nötig, wegen der breiten Agglutinationszone, da nämlich mehrere Röhrchen agglutinieren. Es wäre vielleicht gut, die Intervalle noch größer zu wählen, weil dadurch mehr Uebersichtlichkeit geschaffen würde. Wenn ich z. B. das Optimum der Agglutination im Röhrchen 4 und 5 erhalte, so würde in einem Röhrchen, das den Mittelwert der H^+ von diesen beiden Röhrchen enthält, auch ein Optimum sein. Bei diesem großen Intervall würden aber dann die benachbarten Röhrchen nicht mehr agglutinieren, weil die Konzentration der H^+ eine vom Optimum schon zu sehr differente wäre. Dies könnte einen Ueberblick erleichtern, da die zweifelhaften Agglutinationen entfallen würden. Meinen Versuchen ist diese Einsicht noch nicht zugrunde gelegt.

Es wurden also gemischt: 0,6 ccm einer 3 Tage alten, in 7 ccm Aqu. dest. aufgeschwemmten Kultur + 0,3 ccm Reagens, in jedem der 10 Röhrchen in seiner ihm entsprechenden H⁻-Konzentration. Dann kamen die Röhrchen in den Brutschrank.

Beobachtet wurde nach 20, 40, 60 Minuten Brutschranktemperatur, 6 und 20 Stunden Zimmertemperatur.

Die ersten Zeichen der Agglutination zeigen sich bei Pest etwa nach 20 Minuten, ähnlich also wie W. Heilmann für die Typhus-Paratyphusgruppe bemerkt, doch verschieden deutlich für verschiedene Stämme. Nach 1 Stunde Brutschranktemperatur ist die Agglutination deutlich ausgeprägt und soll abgelesen werden. Nach 6 Stunden ist sie fast immer gleich, also die Ablesung nach dieser Zeit überflüssig, nach 20 Stunden Zimmertemperatur nicht mehr deutlich, da die Agglutinationszone weiter geworden ist, indem noch andere Röhrchen, vorzugsweise höherer H⁻-Konzentration, in Agglutination getreten sind. Eine Ablesung nach so langer Zeit ist also unnütz. Als Ablesungszeit empfiehlt sich demnach 1 Stunde Brutschranktemperatur, welche einerseits zur Entwicklung der Agglutination genügt, andererseits wegen der noch engen Agglutinationszone alles Charakteristische enthält. In der folgenden Tabelle ist nur diese Zeit angeführt und die anderen Ablesungen als uncharakteristisch vernachlässigt worden.

Im allgemeinen habe ich noch feststellen können, daß die zuerst in Agglutination tretenden Röhrchen die Optima sind.

So viel zur Technik, nun die Ergebnisse.

Die Identifikation von Reinkulturen.

Soll die Reaktion einen diagnostischen Wert haben, so müssen durch sie Pestbacillen von pestähnlichen Stäbchen unterschieden werden können. Es wurden also erst Peststämme, dann Pestähnliche untersucht. Im folgenden die beiden Tabellen:

Pestkulturen (Laboratoriumsstämme). Beobachtungszeit 1 Std. B.T.

Röhrchen	Annähernde H ⁻ -Konzentration	Stamm Amphitrite	Stamm Trieste	Stamm Gaspich	Stamm Sponza	Stamm 59	Stamm Vladessich
1	1·10 ⁻⁵	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
2	2·10 ⁻⁵	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
3	4·10 ⁻⁵	⊖	⊖	⊖	angedeutet	angedeutet	angedeutet
4	8·10 ⁻⁵	deutlich (Opt.)	Opt.	stark (Opt.)	fast komplett	Opt.	stark (Opt.)
5	1,6·10 ⁻⁴	dgl.			komplett		
6	3,2·10 ⁻⁴	⊖	deutlich	" ⊖ "	"	deutlich	" "
7	6,4·10 ⁻⁴	⊖	⊖	⊖	"	⊖	⊖
8	1,3·10 ⁻³	⊖	⊖	⊖	deutlich	⊖	⊖
9	2,6·10 ⁻³	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
10	5,2·10 ⁻³	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

Die meisten Peststämme zeigen, wie aus der vorstehenden Tabelle hervorgeht, ihr wohlausgeprägtes Optimum im 4. und 5. Röhrchen. Es agglutiniert manchmal auch Röhrchen 3, meist aber schwach oder gewöhnlich erst dann, wenn die Reaktion nach längerer Zeit als 1 Stunde weniger charakteristisch geworden ist. Oefter treten Röhrchen höherer H⁻-Konzentration in Mitagglutination, und da verhalten sich verschiedene Stämme verschieden. In Stamm „Sponza“ bringe ich ein Beispiel dieser Variabilität, wo die ganze Agglutinationszone gegenüber den an-

deren angeführten Stämmen bedeutend erweitert erscheint, besonders in der Richtung nach den höheren Konzentrationen. Das sind Eigenarten von Stämmen, von denen man wissen muß, die aber den Wert der Probe nicht beeinträchtigen. Denn praktisch gilt das Optimum in Röhrchen 4 und 5. Hier darf es nicht fehlen. In Röhrchen 3 ist die Reaktion, wenn überhaupt vorhanden, angedeutet, die beiden ersten Röhrchen immer negativ. Mitagglutination von Röhrchen 6 ist nicht selten, aber auch bei Stämmen mit ausgedehnter Agglutinationszone, wie „Sponza“, sind die beiden letzten immer negativ.

Es ist noch für die Beurteilung der Reaktion zu erwähnen, daß die Flocken niemals so grob sind, wie ich sie bei der Typhussäureagglutination gesehen habe.

Betrachten wir nun die Pestähnlichen und, was differentialdiagnostisch wichtig ist:

Pestähnliche. Beobachtungszeit 1 Std. B.T.

Röhrchen	Annähernde H.-Konzentration	Pestähnliche I	Pestähnliche II	B. pseudotuberculosis rodentium	B. Danysz	B. avicida	Proteus
1	$1 \cdot 10^{-5}$	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
2	$2 \cdot 10^{-5}$	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	stark
3	$4 \cdot 10^{-5}$	stark	Ø	schwach	Ø	Ø	Opt.
4	$8 \cdot 10^{-5}$	komplett	Ø	stark	Ø	wenig	Ø
5	$1,6 \cdot 10^{-4}$	„	Ø	„	Ø	stark	Ø
6	$3,2 \cdot 10^{-4}$	„	Ø	„	Ø	„	Ø
7	$6,4 \cdot 10^{-4}$	„	stark	Ø	schwach	„	Ø
8	$1,3 \cdot 10^{-3}$	fast komplett	„	Ø	stark	„	Ø
9	$2,6 \cdot 10^{-3}$	Ø	„	Ø	„	„	Ø
10	$5,2 \cdot 10^{-3}$	Ø	deutlich	Ø	„	schwach	Ø

Die in dieser Tabelle aufgeführten Bakterien sind Laboratoriumsstämme. „Pestähnliche I“ und „Pestähnliche II“ stammen von Dr. Tauffer (Fiume), der sie aus dem pestverdächtigen Sputum eines Lungenpestfalles herausgezüchtet hat (XVI. Internationaler mediz. Kongreß in Budapest 1910. Bd. 2. p. 296). Sie wachsen rasch, üppig, sind beweglich, vergären Traubenzucker, sind virulent für Ratten bei intraperitonealer Einverleibung, avirulent bei kutaner und subkutaner Impfung.

Nicht aufgeführt in der Tabelle, aber untersucht wurden: *B. typhi* mur., *B. suicida*, *B. pecum* Friedländer und der von G. Markl aus faulen Rattenkadavern gezüchtete *Abcissus*. Diese zeigen innerhalb der verwendeten Reihe von Konzentrationen von H. überhaupt keine Agglutination, sind also von Pest sofort zu unterscheiden.

Von den aufgeführten Stämmen sind nur „Pestähnliche I“ und *B. pseudotuberculosis rodentium* von Pest nicht zu trennen. Erstere zeigen ein dem Stamme „Sponza“ sehr verwandtes Agglutinationsbild. Vom *B. pseudotuberculosis rodentium* führt Zlatogoroff an, daß er sich von Pest auch durch die spezifische Serumagglutination nicht unterscheidet.

Alle anderen angeführten Stämme unterscheiden sich, wie ein Blick auf die Tabelle lehrt, von Pest sehr wohl, indem Röhrchen 4 und 5, worauf es ankommt, negativ sind. *B. avicida* zeigt freilich ausgesprochene Agglutination in Röhrchen 5, er agglutiniert aber auch in den

hohen H-Konzentrationen (Röhrchen 9 und 10), was Pest nicht tut. Eine Unterscheidung ist also auch da gegeben.

Wenn wir demnach die Ergebnisse überschauen und auf Grund der vorstehenden Daten ein Urteil über den Wert der Proben uns bilden, so können wir sagen: Zeigt ein der Säureagglutination unterworfenen Stamm die charakteristischen Optima nicht, so ist Pest auszuschließen. Zeigt er sie, so kann die Diagnose auf Pest nur mit Wahrscheinlichkeit gestellt werden; jedenfalls müssen *B. pseudotuberculosis rodentium* und Pestähnliche I auszuschließen sein.

Alles in allem kann ich sagen, daß sich die Reaktion zur Identifikation von Reinkulturen eignet. Wegen der größeren Schnelligkeit des Arbeitens, da man sich das Herstellen der Serumverdünnungen erspart und die verschiedenen H-Konzentrationen statt in Flaschen in Büretten stehen und von da ohne Pipetten direkt abgemessen werden können, glaube ich, daß sie bei Massenuntersuchungen, wofern man sich überhaupt der Agglutinationsprobe bedient, einst eine Rolle spielen könnte. Freilich muß man sich bewußt sein, daß sie wie die Typhussäureagglutination eine aspezifische Reaktion darstellt.

Direkte Agglutination von Organbreiemulsionen.

In diesem Abschnitte kann ich mich kürzer fassen, da vieles in der theoretischen Besprechung ihm galt und ich es dort vorweggenommen habe.

Methodisch bin ich folgendermaßen vorgegangen.

Eine Maus bekam $\frac{1}{100}$ Oese einer 24 Stunden alten Laboratoriumskultur Vladessich, die seinerzeit aus einem Pestfall isoliert worden ist. Als 2 Tage darauf das Tier einging, ergab der Obduktionsbefund massenhaft Baeillen im Peritoneum, in der Milz und Leber. Diese Organe wurden nun je mit 10 ccm Aq. dest. und Seesand verrieben, teils filtriert, teils nicht filtriert, auf eine mäßig trübe Emulsion verdünnt, und mit beiden Emulsionen wurde nun die Agglutination angestellt.

Das Ergebnis des Versuches war: Bei der Milzemulsion eine deutliche, gleich starke Agglutination in den Röhrchen 2 bis inkl. 5; bei der Leberemulsion in Röhrchen 2 schwache, im 3. und 4. Röhrchen komplette Agglutination, beide Ablesungen nach 1 Stunde B.T. Dies waren Daten, welche mit den für Pest charakteristischen Optimis befriedigend übereinstimmten. Weitere Versuche ergaben aber, daß in der vorerwähnten Weise von Normalorganen (Milz und Leber) hergestellte Emulsionen die gleichen Optima zeigten. Diese waren also charakteristisch für die Organe, nicht für die Pest.

Dieselben Resultate ergaben die filtrierten Emulsionen.

Ich versuchte noch, die Emulsionen von Normal- wie Pestorganen zu erhitzen, ob sich da Verschiebungen ergeben würden, und brachte sie $\frac{1}{2}$ Stunde auf Temperaturen von 60°, 80° und 100° C. Die Verschiebungen der Optima fanden statt, aber gleich bei Pest- wie bei Normalorganen. Bis 60° blieben die Optima ungefähr die gleichen, wie bei unerhitzten Emulsionen. Bei höheren Temperaturen zeigte sich eine Verschiebung des Optimums nach Röhrchen höherer H-Konzentrationen und eine Verbreiterung der Agglutinationszone, was mit der von Porges entwickelten Anschauung über die Abhängigkeit der spezifischen wie unspezifischen Agglutination

vom Zustande der Bakterioproteine, der durch Erhitzen verändert wird, übereinstimmt.

Die direkte Agglutination von Organbrei ist demnach differentialdiagnostisch **nicht** verwertbar.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die Identifikation von Reinkulturen von Pest ist mit Hilfe der Säureagglutination möglich, da Pest ein wohldefiniertes Optimum der H-Konzentration hat.

Da *B. pseudotuberculosis rodentium* und unser Stamm „Pestähnliche I“ annähernd dieselben Optima zeigen, ist die positive Reaktion nur dann für Pest beweiskräftig, wenn letztere beiden ausgeschlossen werden können. Ein Stamm aber, der die für Pest charakteristischen Optima nicht zeigt, kann niemals Pest sein.

Die direkte Agglutination von Emulsionen von Pestorganen ist zur Sicherung der Diagnose unbrauchbar, da Pest- sowohl wie Normalorgane dieselben Optima zeigen, welche für die Organe, nicht aber für Pest charakteristisch sind.

Literatur.

- Beniasch, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1912. H. 2.
 Grote, L. R., Ueber die praktische Verwertbarkeit der Säureagglutination nach Michaelis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 69. H. 1/2.)
 Hardy, W. B., Journ. of Physiol. Vol. 24. p. 288.
 — and Whetham, W. C. D., *ibid.* Vol. 23. 1899. p. 288.
 Heimann, W., Die Säureagglutination innerhalb der Typhus- Paratyphus-Gruppe, insbesondere sogenannter Paratyphus-C-Bacillen. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 16. H. 2.)
 Markl, G., Bakteriologische Diagnose der Rattenpest. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. H. 5.)
 Michaelis, L., Säureagglutination der Bakterien, insbesondere der Typhusbacillen. (Deutsch. med. Wochenschr. 1911. p. 21.)
 Piras, Präzipitinreaktion als diagnostisches Mittel der Pest. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Origin. Bd. 71. H. 1.)
 Poppe, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 13. H. 2.
 Robertson, Die physikalische Chemie der Proteine.
 Schidorsky, H., u. Rein, W., Deutsch. med. Wochenschr. 1912. p. 24.
 Whetham, W. C. D., Philos. Magaz. Vol. 48. 1899. p. 474.
 Zlatogoroff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37.

Nachdruck verboten.

Plasma-Nährstoff für Massenkulturen.

Von Dr. K. Löffl,

kommandiert zur Kgl. militärärztlichen Akademie München.

In No. 4 Bd. 76 dieser Zeitschrift referiert K. E. F. Schmitz über die Verwendung von Loeffler-Serum zur Anreicherung von Typhuskulturen und Heranziehung dieses Serums zu Elektivnährböden. Der günstige Einfluß auf das Wachstum von Typhusstämmen ist schon länger bekannt; wenn auch dieses Serum nicht derart zu Elektivnährböden, sondern nur zu Massenkulturen Anwendung fand. So habe ich vor mehreren Jahren in Paris zur Vertilgung der Feldmäuse in verschiedenen

Departements ungeheure Quantitäten Mäusetyphuskulturen hergestellt, mit denen Haferbiskuits getränkt wurden. Diese wurden auf den Feldern ausgestreut, und die Mäuseplage dadurch wirksam bekämpft.

Die großen Mengen Bouillon, welche zu den Kulturen notwendig waren, beanspruchten viel Fleischextrakt und Pepton. Darum wurde nach einem billigeren Nährboden für Massenkulturen gesucht und dieser im peptonisierten Blutplasma gefunden.

Mit dem gegenwärtigen Kriege ist die Industrialisierung von Verfahren zu Bakterienmassenkulturen mehrfach verwirklicht worden. Wir haben die Verfahren zur Gewinnung von Hefe durch Massenkulturen mit Erlaß des Reichskanzlers monopolisiert, in Rußland stellt man nach Berichten von dort Zitronensäure durch Kulturverfahren von *Saccharomyces citri* her, und fast alle kriegführenden Staaten müssen durch die Typhus- und Choleraschutzimpfung früher nie geahnte Mengen Plattenkulturen von Typhus und Cholera anlegen. Die Suche nach billigen Nährböden ist daher fast allgemein geworden, die Herstellung des Plasma-Nährstoffes sei daher zur Erprobung für Typhus- und Cholera-Stämme zu Impfstoff hier angegeben:

Da die üblichen Nährböden durchschnittlich 1 Proz. Fleischextrakt und 1 Proz. Pepton enthalten, so sollte der Plasmanährboden ebenfalls 2 Proz. Nährstoffe haben.

Das Rohmaterial, das Plasma, wurde nach Arthus und Pages¹⁾ gewonnen. In 1 Liter 0,8-proz. Ammoniumoxalatlösung ließ man unter Rühren 9 Liter Blut laufen, mischte es gut durch und zentrifugierte in der Maschine bei 3000 Touren in der Minute. Das aus der Zentrifuge ablaufende Plasma betrug 6,280 Liter, welches ca. 10 Proz. feste Substanz beim Verdampfen hinterließ. Die 628 g Verdampfungsrückstand bestanden zu 80 Proz. aus Eiweißstoffen, dem Serumalbumin, Serumglobin und Fibrinogen, die alle beim Erhitzen zwischen 55 und 80° gefällt wurden. Die restigen 20 Proz. Nichteiweißstoffe bestanden aus ca. 5,0 mit Aether extrahierbaren Substanzen, Fett, Cholesterin und Lecithin. Das übrige bestand aus den Blutsalzen und nicht wieder löslichen Rückständen.

Die 6 Liter Plasma wurden nun, nachdem das zuerst zugesetzte Oxalat mit Calciumacetat gefällt worden war, mit 40 g Trypsin versetzt, 8 Tage nach E. Abderhalden²⁾ hydrolysiert resp. peptonisiert, und nach dieser Zeit durch Kochen die Trypsinwirkung unterbrochen, absetzen lassen, filtriert und sterilisiert.

Da diese nunmehrige Nährlösung durchschnittlich 8 Proz. Nährsubstanz enthielt, wurde sie demnach als „Plasma nutriment Quatriplex“ angesprochen und konnte dementsprechend auf 1:3 verdünnt werden. Durch Eindampfen im Vakuum kann man auch 100-proz. Trockennährstoff herstellen, 1 Kilo zu M. 4,80. 2 Kilo des Plasma-Nährstoffes zu M. 9,60 entsprechen somit 1 Kilo Fleischextrakt zu 24 Mark und 1 Kilo Pepton zu 30 Mark. 1 Liter Pepton-Fleisch- oder Fleischextraktbouillon kostet heute ca. 1 M.; dem stehen außer der Arbeit, die mit 20 Pf. pro Liter im großen berechnet werden kann, und Trypsinemulsion, 60 g = 0,35 M., 0,55 M. gegenüber. Wo Blut nicht leicht beschaffbar oder eine Zentrifuge nicht vorhanden ist, wäre der Versuch zu machen, das gleiche

1) Nouvelle théorie chimique de la coagulation. (Arch. de physiol. Sér. 2. T. 5. 1890. p. 739—746.)

2) Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 37. 1903. p. 495.

Verfahren auch mit Hefe durchzuführen, indem man die Hefe-Eiweißkörper verdaut, resp. abbaut.

Nun noch einiges zur chemischen Zusammensetzung dieses Nährstoffes: Das ganze Verfahren basiert auf der auch in No. 4 des Centralblattes erwähnten Wahrnehmung, daß die wachstumbegünstigenden Nährstoffe in Loeffler-Serum nicht im bis 100° koagulierenden Teile des Serums sich finden, sondern in den nicht koagulierbaren, wie dort etwas unbestimmt gesagt ist; sachgemäß ausgedrückt, heißt es, den Bakteriennährstoff bilden hauptsächlich die einfacher aufgebauten Eiweißstoffe, nicht die komplizierten Eiweißstoffe und Polypeptide, die in der Hitze koagulieren. Der oben beschriebene Nährstoff enthält als Hauptbestandteile durchschnittlich 3,14 Alanin, 14,38 Leucin und 4,08 Asparaginsäure auf 100 Teile peptonisierter Substanz.

Beim Sterilisieren der Nährlösung destilliert Alanin und Leucin, deren Siedepunkte innerhalb dem des Wassers liegen, mit diesem und kondensiert sich auch mit ihm, daher das Wachstum im Kondenswasser.

Diese Tatsache gab zu neuen Versuchen Anlaß.

Bisher galt die Suche nach neuen Nährböden fast durchweg der Differenzierung von Gattungen und Arten sowie medizinisch-diagnostischen Zwecken. Selten, wie bei der von Delbrück gefundenen Nährlösung für Hefe und dem nun zu Typhus- und Cholerakulturen verwendeten Hefewasser, hatte man technische Zwecke oder eine Verbilligung des Nährkörpers im Auge. Fast nie aber sind Versuche unternommen worden, denen der Gedanke zugrunde lag, Massenkulturen auf chemisch möglichst einfachem und ihrer chemischen Zusammensetzung nach bekanntem Nährboden zu züchten und die Ernährungsweise der betreffenden Species und den chemischen Aufbau des Zellkörpers zu ergründen, also kurz gesagt, zu Versuchen mit biologischen und biochemischen Zwecken. Solche Arbeiten sind für die heute so stark in den Vordergrund getretene Serumtherapie äußerst wertvoll. Die Herstellung unserer Vaccine und Sera beruht bekanntlich noch auf sehr empirischen Anschauungen und Verfahren. Die Toxine und Antitoxine nennt man einfach Eiweißkörper. Da aber bekanntlich die einen Toxinlösungen mit Eiweiß fällenden Reagentien reagieren, andere nicht, so muß es sich teils um chemisch hochmolekulare, teils um einfachere Verbindungen handeln. So man nun als Nährstoffe für die Kulturen möglichst niedermolekulare und einfache chemische Verbindungen verwenden würde, wäre es leichter möglich, die Flüssigkeiten nach dem Wachstum der Kulturen auf die von den Bakterien abgegebenen Ausscheidungsprodukte hin zu analysieren und deren chemischer Konstitution nahezukommen. Diese Stoffwechselprodukte der Bakterien dürften wahrscheinlich nicht komplizierter sein als das Chlorophyll und die in den letzten Jahren aufgeklärten Pflanzenfarbstoffe.

Nachdruck verboten.

Ein einfaches Verfahren zur Bouillonbereitung aus Blutkuchen.

[Aus dem Kgl. Ung. Bakteriologischen Institut in Budapest.]

Von Privatdozent Dr. **Alfred Szász**, Kgl. Oberbakteriolog.

Als ich die Bouillonbereitung aus Blutkuchen in dieser Zeitschrift¹⁾ beschrieb, habe ich erwähnt, daß das Kochverfahren in der Praxis jedenfalls noch geändert und vervollkommenet würde. Bei der Korrektur war ich bereits selbst in der Lage, anzudeuten, daß ich in Kürze ein einfaches Verfahren beschreiben würde, bei welchem das Kochen auf das Minimum reduziert wird, infolgedessen einerseits die Originaleiweißstoffe des Blutkuchens intakt erhalten bleiben und andererseits Herstellungskosten und Arbeit auf das Geringste herabgesetzt werden.

Dieses einfache Verfahren zur Bereitung von Blutbouillon, deren Zweckmäßigkeit ich bereits seit mehreren Monaten beobachten konnte, ist das folgende:

Der Blutkuchen wird mit der Hand oder mit einem Stück Holz in Brocken von Walnuß- oder Haselnußgröße zerkleinert. Die Masse wird gewogen — falls der Kuchen nicht bei Serumerzeugung gewonnen, sondern vom Schlachthof bezogen wurde, wird auch das Serum mitgewogen —, und es ist für jedes Kilogramm Blut einundeinhalb Liter Wasser zuzugießen. Nachdem das Ganze gut durchgerührt wurde, läßt man es in kühlem Raume 20–24 Stunden stehen, während welcher Zeit es einigemal gut umzurühren ist.

Hiernach wird die Masse durch die übliche grobe Leinwand filtriert und das Filtrat so lange gekocht, bis sich der Blutgehalt darin zu braunen Klümpchen zusammensetzt und der Saft zugleich durchsichtig gelb wird. Letzteres kann man beim Zurückrinnen der mit dem Kochlöffel oder mit dem Umrührglasrohr emporgehobenen Flüssigkeit gut beobachten resp. feststellen. Die beim Kochen eingehende Flüssigkeit wird auf das ursprüngliche Quantum aufgefüllt, die chemische Reaktion dem Zwecke entsprechend korrigiert, und es wird im allgemeinen dasselbe Verfahren beobachtet, wie bei Bereitung der Fleischbrühe und wie bereits früher beschrieben. In der Regel bekommt man schon beim ersten oder zweiten Aufguß eine reine, durchsichtige Flüssigkeit, die beim weiteren Filtrieren freilich noch schöner wird.

Ich bemerke, daß die Blutbouillon in unserem Institut auch für den allgemeinen Gebrauch in der Regel mit 0,5 Proz. Glycerin vermennt wird.

Das Kochen von Bouillon aus Blutkuchen, der bei der Serumerzeugung zurückbleibt, habe ich in unserem Institut im Frühjahr 1913 angefangen und das Verfahren zum ersten Male ein Jahr später, Anfang 1914, beschrieben. Wenn eine solche Verwertung des bei der Serumerzeugung zurückbleibenden oder im Schlachthof so billig erhältlichen Blutkuchens schon damals wirtschaftlich erschien, weil die serumerzeugenden Institute ihren Bouillonbedarf hierdurch gratis erhalten und auch die den Blutkuchen vom Schlachthof beziehenden Institute

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915. H. 5/6.

für nur einige Heller, so ist diese Verwertung des Blutkuchens bei den gegenwärtigen Fleischpreisen wohl noch mehr motiviert, und meines Erachtens braucht sie gar nicht extra empfohlen zu werden. Wenn man in Betracht zieht, daß der Eiweißgehalt des Blutes im allgemeinen 17,5 Proz. beträgt, also ungefähr ebensoviel wie des fetteren Rindfleisches, dann, daß wir die verschiedenen Blutarten, resp. die einzelnen Substanzen des Blutes, wie Serum, rote Blutkörperchen, Hämoglobin usw., ohnedies zur Herstellung einzelner spezieller Nährböden in Anspruch genommen haben und schließlich, daß das Fleisch, resp. Fleischbouillon und -brühe zur künstlichen Züchtung der pathogenen Keime gerade wegen des Blutgehalts geeignet ist, so wird es wohl jedermann unzweifelhaft erscheinen, daß man mit entsprechendem Verfahren aus dem Blut einen erstklassigen Nährboden zur Züchtung der pathogenen Bakterien erzeugen kann.

Das hier beschriebene Verfahren ist viel einfacher, als die Bereitung der Fleischbrühe, schon deshalb, weil das Reinigen des Fleisches (Flechtsen), das Entfetten und das langwierige Haschieren wegfallen. Das Verfahren ist so einfach, daß ein Versuch nirgends Schwierigkeiten oder nennenswerte Kosten verursachen kann. Wenn auch die ersten Versuche hier und da vielleicht nicht ganz einwandfrei gelingen sollten, so wird doch nach 1—2 Proben jedermann aus Rinder-, Pferde- oder Schweineblut den besten Nährboden erzeugen können.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

- | | |
|---|--|
| <p>Carini, A. u. Maciel, J., Ueber Pneumocystis Carinii, p. 46.</p> <p>Castellani, Aldo, Further Researches on combined Vaccines, p. 63.</p> <p>Fischer, Albert, Untersuchungen über die Darmflora beim gesunden Ochsen, p. 6.</p> <p>Löffl, K., Plasma-Nährstoff für Massenkulturen, p. 108.</p> <p>Maggio, C. u. Rosenbusch, F., Studien über die Chagaskrankheit in Argentinien und die Trypanosomen der „Vinchucas“ (Wanzen, <i>Triatoma infestans</i> Klug), p. 40.</p> <p>Markl, J. G., Ueber Säureagglutination von Pestbacillen, p. 402.</p> <p>Preis, Hugo, Untersuchungen über die Wirkungsweise des Antipneumokokken-serums, p. 89.</p> | <p>Bautmann, H., Untersuchungen über den Desinfektionswert stark bewegter, trockener Heißluft, p. 50.</p> <p>Boček, Josef, Ueber die Wirkung des Indols auf Typhusbacillenkulturen als Grundlage für therapeutische Versuche, p. 100.</p> <p>Salus, Gottlieb, Ueber anaerobe Streptokokken, p. 1.</p> <p>Szász, Alfred, Ein einfaches Verfahren zur Bouillonbereitung aus Blutkuchen, p. 111.</p> <p>Tillgren, J., Studien über die Pneumokokken-Immunität. II. Mitteilung. Immunserum und Leukocyten, p. 74.</p> <p>Tillgren, J., Studien über die Pneumokokken-Immunität. III. Mittel., p. 84.</p> |
|---|--|

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 77. Heft 2.

Ausgegeben am 29. November 1915.

Nachdruck verboten.

Ueber morphologische und tinktorielle Besonderheiten bei Tuberkelbacillen vom Typus gallinaceus, unter spezieller Berücksichtigung der Granula.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Bern
(Direktor: Prof. Dr. W. Kolle).]

Von Dr. Leo Minder, Zürich.

Schon vor der Entdeckung des Tuberkelbacillus durch Robert Koch hatte Paulicki die Aehnlichkeit einer Geflügelkrankheit mit der menschlichen Tuberkulose erkannt. Koch erbrachte dann 1882 den Nachweis, daß oben benannte Krankheit, die er bei Hühnern vorfand, durch einen Erreger hervorgebracht werde, der sich morphologisch und tinktoriell dem Bacillus der Menschentuberkulose ähnlich verhalte. Die Krankheit wurde von ihm deshalb als Geflügeltuberkulose bezeichnet und der Menschen- und Säugetiertuberkulose nahestehend hingestellt. Seither ist die Geflügeltuberkulose Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Wenn auch heute noch die Frage der Identität der Säugetier- und Menschentuberkulose eine offene ist, so sind sich doch alle Forscher darüber einig, daß die Geflügeltuberkulose von der Menschen- und Säugetiertuberkulose morphologisch und biologisch, namentlich durch die Tierpathogenität, zu trennen ist.

Vom botanischen Standpunkte aus ist es erklärlich, daß es sich bei den Tuberkelbacillen der verschiedenen Typen um — wie der Botaniker sie zu benennen pflegt — biologische Arten handelt, wobei also in erster Linie physiologische Merkmale, d. h. Anpassung an Tierarten, im Verlaufe langer Zeiträume entstanden, sie unterscheiden und klassifizieren lassen. Wir hätten demnach hier ganz analoge Verhältnisse, wie die höheren Kryptogamen, z. B. Uredineen, sie zeigen. So geht der Rostpilz des Roggens nicht auf den Hafer über und umgekehrt. Trotzdem lassen diese Pilze mikro- und makroskopisch morphologisch nicht die geringsten Verschiedenheiten erkennen. Damit wäre uns auch der Weg vorgezeichnet, den wir betreten müssen, um die verschiedenen Typen der Tuberkelbacillen voneinander zu trennen, nämlich der Tierversuch, den zuerst Robert Koch in seinen Versuchen mit vom Menschen und Tier gewonnenen Reinkulturen von Tuberkelbacillen beschritten hat.

Immerhin ist nicht zu verkennen, daß der starke Pleomorphismus, zu dem der Vogeltuberkelbacillus neigt, uns wenigstens Andeutungen geben kann, wo wir für die Tuberkelbacillen überhaupt im Systeme der Kryptogamen die Anschlüsse zu suchen haben.

Die Pathogenität der Geflügeltuberkuloseerreger soll nach der Mehrzahl der Forscher folgende Verhältnisse zeigen: Hunde sind so gut wie ganz immun. Die Virulenz für Kaninchen ist nicht annähernd so groß wie bei Tuberkelbacillen vom Typus humanus und bovinus; es läßt sich aber eine lokale Erkrankung bei vorgeschrittenem Infektionsstadium erzielen, fernerhin auch tuberkulöse Allgemeinerkrankung. Es erkranken

nach experimenteller Infektion auch Pferde, Rinder und Ziegen, wobei sich die Eigentümlichkeit zeigt, daß ältere Tiere resistenter sind als junge. Tauben und Hühner erkranken an dem für sie charakteristischen Krankheitsbilde, sowohl nach experimenteller wie nach Spontaninfektion. Die durch Spontaninfektion erfolgte Geflügeltuberkulose wird zumeist durch Verfütterung von Tuberkelbacillen verursacht. Die Bacillen erfahren dann eine massenhafte Vermehrung in der Leber. Weder mit menschlichen noch mit Säugetiertuberkelbacillen läßt sich ein solches Krankheitsbild durch Verfütterung erzielen. Eine Mittelstellung nimmt der Papagei ein, indem er für Geflügel-, Säugetier- und Menschentuberkulose ungefähr gleich empfänglich ist.

Die Tuberkulose des Geflügels soll nach Zürn eine der häufigsten Krankheiten des Geflügelhofes sein. Dieser Forscher fand bei 600 seziierten Hühnern 62mal Tuberkulose vor. In der Schweiz ist die Geflügeltuberkulose allerdings nicht sehr verbreitet.

Allgemeine Erörterungen über morphologische und tinktorielle Verhältnisse bei Tuberkelbacillen überhaupt.

Der Vogeltuberkelbacillus ist bezüglich der feineren morphologischen Strukturen verhältnismäßig wenig untersucht. Sicher ist, daß er den Typen *bovinus* und *humanus* morphologisch und tinktoriell so nahe steht, daß er — seine pathogenen Eigenschaften ganz außer acht gelassen — den Erregern der Säugetier- und Menschentuberkulose angereiht werden muß. Es gelten also auch für ihn alle jene Fragen, die über die Morphologie und Biologie der Tuberkelbacillen der beiden anderen Typen gelöst worden oder noch zu lösen sind. Die wichtigste derselben ist die Sporenfrage.

Bekanntlich besteht eine Eigentümlichkeit der Tuberkelbacillen darin, unter gewissen Bedingungen im Innern des Bacillenleibes runde, stark lichtbrechende Körner auszubilden, die sich zudem durch ihr intensiv grampositives Verhalten auszeichnen. Von Much wurden sie als „Granula“ bezeichnet. Die Zahl der Auffassungen, die diese Gebilde im Laufe der Zeit erlitten haben, ist keine geringe. Doch gipfeln sie im wesentlichen in der Frage, ob die Granula als Sporen anzusprechen seien oder nicht. Die Muchschen Granula treten auch — wie später gezeigt werden soll — in typischer Weise bei den Bacillen vom Typus *gallinaceus* auf.

Eingehendere Untersuchungen über den Vogeltuberkelbacillus liegen eigentlich nur von Maffucci vor. Nach diesem Forscher zeigt sich der Bacillus in den tierischen Geweben etwas granulös und länger als derjenige der Säugetiertuberkulose. Maffucci untersuchte weiter Bacillen bei verschiedenen Temperaturgraden. So findet er, daß Bacillen von einer Kultur, die einen Monat bei 37° C gezüchtet wurde, sich nicht von den Erregern der Säugetiertuberkulose unterscheiden. Es sind kurze, intensiv gefärbte Stäbchen mit abgerundeten Enden, ebenso lang wie dick. Neben diesen mittleren Formen befinden sich einige längere, aber auch solche von großer Kleinheit, die er nahezu mit Kokken vergleichen konnte. Eine bei 25° oder 45° C entwickelte, einen Monat alte Kultur zeigt die gleichen Verhältnisse. Es befinden sich jedoch bei den bei 45° C gewachsenen einige schwach gefärbte Formen, bei denen das Protoplasma „granulös“ geworden ist. Ferner beschreibt er unter diesen noch Formen, deren Enden kolbig aufgetrieben sind und die seit-

liche, nicht sehr auffällige Verzweigungen bilden. Die gleiche Kultur, bei 45° C 2 Monate gehalten, zeigt andere Formen. Neben den kleinen, wenig gefärbten, granulierten Typen gibt es sehr lange von größerem Durchmesser, oft mit kolbigen Enden, einige mit gabelförmigen Verlängerungen. Kulturen, bei 50° C über 2 Monate gehalten, zeigen einen vollständigen Zerfall der Bacillen in eine granulöse Masse. Die verzweigten Fäden betrachtet Maffucci als eine Tendenz zu degenerativen Formen und als spezifisch für den Hühnertuberkelbacillus und glaubt, daß ihre Evolution und ihre Zerstörung von der hohen Temperatur bedingt seien.

Ueber die Sporenfrage äußert er sich, wie folgt: Das Protoplasma des Bacillus löst sich, je nach seinem Alter, in der Kultur oder im Gewebe von der „Kapsel“ los. Die Abbröckelung entsteht durch die Formation der hellen Zwischenräume im Protoplasma des Bacillus, welche an Zahl und Ausdehnung zunehmen, je älter der Bacillus wird. Das Protoplasma nimmt dann die Form von kleinen, bald runden, bald ovalen, immer gefärbten Kugeln an. Diese Kugeln verkleinern sich immer mehr in der Membran des Bacillus, einige können aus derselben herausgehen, und in den alten Kulturen bildet sich ein Detritus aus der Membran und den protoplasmatischen kleinen Kugeln. Der Verfasser glaubt nun, indirekte Anhaltspunkte dafür zu haben, daß „jene Sphären“ Sporen bedeuten könnten. So will er beobachtet haben, daß bei einem infizierten Hühnembryo, bei dem die Bacillen in Kugeln zerfallen waren, sich aus den Kugeln Stäbchen entwickelten, wenn man den Embryo auswachsen ließ oder das Material auf andere Tiere übertrug oder künstliche Nährböden damit impfte. Er schließt nun, daß „wenn tatsächlich jene Kugeln neue Bacillen erzeugen können, sie Sporen bedeuten würden“. Immerhin zeigen sie keine große Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse. Maffucci erachtet somit die Sporenfrage als noch nicht gelöst.

Zahlreiche Forscher studierten diese gleiche Sporenfrage an den Bacillen der Typen *humanus* und *bovinus* und kommen, wie bereits erwähnt, oft zu sehr divergierenden Resultaten. Die Mehrzahl der kompetenten Forscher vertritt allerdings den Standpunkt, der heutzutage allein auf Grund der exakten experimentellen Forschungen maßgebend sein kann, daß die Tuberkelbacillen keine Sporen besitzen, denn noch niemals ist eine erhöhte Resistenz der Granula nachgewiesen worden.

Zuerst erwähnt die Granula Robert Koch in seiner grundlegenden Arbeit: „Aetiologie der Tuberkulose“. Nach ihm sollte der Tuberkelbacillus endogene Sporen bilden. Koch hat diese Ansicht später wieder fallen gelassen, weil sie experimentell biologisch nicht haltbar war.

Coppen Jones beschreibt Gebilde, die er „der Kürze wegen“ Sporen nennt, ohne damit die Identität mit den eigentlichen Endosporen zu behaupten. Sie sollen zwar typische Neissersche Sporenreaktion zeigen und vor allem in Sputis und käseähnlichen Bacillenculturen phthisischer Kavernen sehr zahlreich, weniger zahlreich hingegen in Reinkulturen auftreten und besonders resistent gegen Säuren sein.

C. Spengler nennt körnige Gebilde, die er in Sputis Tuberkulöser fand, „Splitter“ und bezeichnet sie als an der Grenze der Vitalität angelangte Wuchsformen der Tuberkelbacillen. Nach weiteren Untersuchungen über die Unterschiede zwischen den Erregern der Rinder- und Menschentuberkulose behauptet er, daß es ihm gelungen sei, für die ersteren Sporencharakter nachzuweisen. Dagegen zeigt der Tuberkelbacillus des Typus *humanus* diese Splitteranordnung nicht. Bei ihm

reihen sich die sporenähnlichen Körner zu einem Stäbchenverband aneinander.

Sander findet in Kulturen von pflanzlichen Nährböden Bacillen, „die vielleicht als beginnende Sporenbildung gedeutet werden müssen“. Ferner findet er, daß auch im Tierkörper Dauerformen vorkommen müssen.

Weitere Forscher, wie Wladimiroff, Preisz und Günther, bestreiten die Sporennatur der Granula.

In neuerer Zeit hat sich Much dieser eigentümlichen Körperchen im Tuberkelbacillus angenommen, indem er zu deren Darstellung eine eigene Färbemethode (die nach Much modifizierte Gram-Methode) anwandte. Er kommt dabei zu folgenden Resultaten:

1) Es gibt eine nach Ziehl nicht darstellbare, granuläre Form des Tuberkulosevirus.

2) Diese granuläre Form ist virulent.

3) Sie kann in tuberkulösen Organen vorkommen als einzig färbereich nachweisbare Manifestation des Tuberkel verursachenden Agens.

4) Sie kann auch vergesellschaftet sein mit einer feinen Stäbchenform, die ebenfalls nicht nach Ziehl darstellbar ist.

5) Es gibt Uebergänge von der nur nach Gram färbbaren Granulaform zu der feinen, auch nur nach Gram färbbaren Stäbchenform, und weiter zu den auch nach Ziehl färbbaren Stäbchen (und Körnern).

Das Wesentliche seiner Untersuchungen gipfelt also darin, daß es eine Form des Tuberkulosevirus gibt, die nach Ziehl wie nach Gram dargestellt werden kann, und eine zweite granuläre, die nur nach Gram (Much) dargestellt werden kann, ferner daß diese granuläre Form imstande ist, Tuberkulose zu erzeugen.

Die Granula können vereinzelt, zu Stäbchenform geordnet oder in Häufchen nebeneinander liegend vorkommen. Es sind kleine, rundliche Gebilde, die sich nach Gram (Much) dunkelviolet bis schwarz färben. Sie lassen sich vergleichen mit Kokken, nur sind sie viel kleiner. Much behauptet, durch Züchtungsversuche gefunden zu haben, daß aus diesen grampositiven Körnchen durch Auskeimen allmählich die nach Ziehl darstellbaren, säurefesten Stäbchen entstehen.

Diese Theorie suchte Much durch folgenden Versuch zu stützen: Er impfte ein Meerschweinchen mit einer Aufschwemmung, in welcher seiner Ansicht nach nur freie Granula sich befanden. Das Tier zeigte später nach der Sektion Milz- und Lungentuberkulose. In Präparaten fand er deutlich nach Ziehl färbbare Stäbchen. Gestützt auf diese Versuche, schließt Much, daß die Granula eine Uebergangsform zu den Stäbchen, also eine bestimmte Entwicklungsform des Tuberkelbacillus, darstellen.

v. Betegh wandte eine neue Färbemethode an, die er als b-Tolinmethode bezeichnet. Er beschreibt Gebilde bei Menschen-, Rinder- und Vogeltuberkelbacillen, die mit den Muchschen Granula identisch seien, und nennt sie kurzerhand Sporen.

Fontes kommt bei seinen Untersuchungen über die Granula zu folgenden Schlußfolgerungen: Die Granula des Tuberkelbacillus sind von einer chromatinartigen Substanz gebildet. Sie sind der eigentlich virulente Teil des Bacillus, der also als Vereinigung lebender Einheiten angesehen werden muß. Die Granula sind nach diesem Autor reproduktionsfähig und haben dieselbe Funktion, wie die Konidien bei den Pilzen. Die Granula bringen, in Meerschweinchen injiziert, Stäbchen hervor. In

Kulturen entwickelt sich das Tuberkulosevirus vom Stadium des Granulums zu demjenigen der Bacillenklümpchen.

R. Bittrolff und K. Momose behaupten, daß nach der Muchschen Methode keine anderen Formen des Tuberkelbacillus dargestellt werden, als nach Ziehl. Sie fanden, daß die in dem untersuchten Material bei der Färbung nach Much gefundenen Tuberkelbacillen bei der Umfärbung nach Ziehl stets säurefest waren; ferner, daß in nach Ziehl negativen Fällen auch mit der Muchschen Methode nichts zu finden war. Endlich wiesen die in einzelnen Fällen vorkommenden, isolierten Granula (granuläre Form Muchs) bei der Umfärbung nach Weiss stets einen kurzen, säurefesten Fortsatz auf und stellten sich bei weiterer Umfärbung nach Ziehl als kurzes, säurefestes Stäbchen dar.

Rosenblatt hält die Muchschen Granula weder für Entwicklungsformen noch für Dauerformen. Sie werden vielmehr als Zerfallsprodukte der Bacillen angesehen, die nach Verlust der säurefesten Membran sich nicht mehr homogen färben lassen, daher gekörnt erscheinen.

Nach diesen Angaben zeigt es sich also, daß die Granula nicht nur ab und zu bei Tuberkelbacillen gefunden werden, sondern konstant in jungen und alten Kulturen, im Körper der verschiedenen Tiere beim Typus humanus und bovinus sowie beim Typus gallinaceus auftreten. Sie müssen daher als ein wesentlicher Bestandteil des Tuberkelbacillus angesehen werden. Viele Forscher haben sie, wie wir gesehen haben, als Sporen angesprochen, und zwar entweder als Sporen im bakteriologischen Sinne, als resistente Dauerformen, oder als Sporen im Sinne von Entwicklungsformen des Bacillus und dabei der Vermehrung dienend, wie wir Gleiches bei Pilzen und Algen treffen. Andere halten die Granula für Degenerationsprodukte, die also nicht normalerweise in die Entwicklung des Bacillus gehören.

Eigene Untersuchungen an den Erregern der Vogeltuberkulose.

Die hauptsächlichsten Fragen, die ich mir stellte, sind kurz folgende:

1) Lassen sich die strukturellen Verhältnisse bei Vogeltuberkelbacillen durch Verwendung verschiedener Färbemethoden, eventuell mit Umfärbungen, weiter erforschen?

2) Zeigt der Vogeltuberkelbacillus besondere Eigentümlichkeiten in bezug auf die Granula?

3) Wie sind die Granula zu deuten?

Zu meinen Untersuchungen verwandte ich folgendes Material:

1) Reinkulturen von Bacillenstämmen verschiedener Herkunft, und zwar aus Fiume, Marburg, Kopenhagen und Lyon¹⁾, die uns aus den Laboratorien der Herren L. v. Betegh in Fiume, Prof. v. Behring in Marburg, Prof. Bang in Kopenhagen und Prof. Arloing in Lyon gütigst zur Verfügung gestellt wurden.

2) Material aus dem Tierkörper. Als Versuchstiere kamen in Betracht: Hühner, Meerschweinchen und Kaninchen.

Kulturelles Verhalten.

Es wurden Kulturen angelegt auf festen und flüssigen Nährböden. Als feste Nährböden dienten Gehirnagar und Glyzerinagar, als flüssiger

1) In der Folge werden diese Stämme der Einfachheit wegen kurz als Stamm Fiume, Stamm Marburg etc. bezeichnet werden.

Nährboden die übliche Glyzerinbouillon. Die Kulturen wurden sämtlich bei 37° gehalten. Die auf Gehirnnagar gewachsenen Bacillen zeigten, verglichen mit denjenigen auf Glyzerinagar, keine morphologischen Unterschiede.

1) Gehirnnagar. Auf diesem Nährmedium gedeihen die Erreger der Vogeltuberkulose besonders üppig. Mit Hilfe eines Platinspatels wurde eine ziemlich große Menge einer Reinkultur auf dem Nährboden verrieben. Von Vorteil war stets eine ziemliche Menge von Kondenswasser im Kulturröhrchen. Das Wachstum der nicht zufällig verunreinigten Kultur ging ziemlich rasch an. Meist schon nach ca. 5 Tagen ließen sich auf der glatten Fläche kleine, weißlich-glänzende Wärzchen sehen. Doch war der sichthare Beginn des Wachstums ohne bekannte Ursachen oft ziemlichen Schwankungen unterworfen. Im Verlaufe der Zeit vermehrten und vergrößerten sich die Wärzchen bis zu ihrer gegenseitigen Berührung. Bei älteren Kulturen ist das Bild kein besonders typisches mehr. Der Nährboden erscheint alsdann zumeist mit einer unebenen, schmierigen Masse bedeckt, wobei die ursprüngliche Warzenform oft noch undeutlich sich hervorhebt. Bekanntlich werden Gehirnnährböden zur Züchtung von Tuberkelbacillen der Typen bovinus und humanus mit großem Vorteile angewendet. Das gleiche intensive Wachstum der Bacillen vom Typus gallinaceus auf diesen Nährböden beweist, daß alle Typen in bezug auf die Stickstoffquelle des Nährmediums weitgehende Uebereinstimmung zeigen. Letzteres dürfte wiederum für die Frage ihrer gegenseitigen Verwandtschaft nicht ohne Bedeutung sein.

2) Glyzerinagar. Ein recht charakteristisches Wachstum wird erzielt auf Glyzerinagar. Mehrere Tage (8 und mehr) nach der Ueberimpfung sieht man auf dem Nährboden äußerst feine, vielfach verschlungene, scharf konturierte, faltige Gebilde. Nach längerem Wachstum nehmen dieselben an Mächtigkeit zu, ohne ihr typisches Aussehen zu verlieren. Bei alten Kulturen wuchern auf der Oberfläche vielfach gebogene und unregelmäßig ineinander verschlungene Wülstchen.

3) Glyzerinbouillon. Es wurde in erster Linie darauf ausgegangen, Oberflächenkulturen zu erzielen. Weite, niedrige Glaskolben, zur Hälfte mit Bouillon gefüllt, erwiesen sich am zweckmäßigsten. Auf ein steriles Korkplättchen wurde wenig Material übertragen und dasselbe vorsichtig in den Kolben eingeführt. Es ließ sich auf diese Weise oft ein üppiges Wachstum erzielen mit charakteristischem Faltenwurfe. Bei alten Kulturen neigte der Rasen dazu, an den Wänden des Kolbens emporzuwachsen.

Tinktorielles Verhalten.

Zur Gewinnung eines Urteils über die Granula wandte ich folgende Färbemethoden an, die sich bei den Typen humanus und bovinus bewährt hatten:

- a) die Ziehl-Neelsensche,
- b) die Gram-Methode 2 nach Much,
- c) die Methode von Gasis,
- d) Pikrinsäuremethode nach Spengler.

Weitere Methoden, die ich erst im Laufe der Untersuchungen heranzog, sollen an entsprechender Stelle Erwähnung finden.

Die angeführten Färbemethoden kamen wie folgt zur Ausführung:

a) Methode nach Ziehl-Neelsen.

Die getrockneten und fixierten Ausstrichpräparate wurden mit Karbolfuchsin über der Flamme gefärbt (2—3 Minuten) und darauf mit verdünnter Salpetersäure (1:4) 10—30 Sekunden entfärbt. Schließlich mit 60-proz. Alkohol übergossen, bis kein Farbstoff mehr abgegeben wurde. Nach Wasserspülung erfolgte die Nachfärbung mit Methylenblau.

b) Gram-Methode 2 nach Much.

Das Präparat wurde mit Methylviolett übergossen und erwärmt bis zur Dampfbildung. (10 ccm gesättigte alkoholische Methylviolettlösung in 100 ccm 2-proz. Phenollösung, der entstehenden Niederschläge wegen mehrmals filtriert.) Dann ca. 3 Minuten stehen gelassen, mit Lugolscher Lösung übergossen und diese 3—5 Minuten der Einwirkung überlassen. Die Entfärbung geschah mit 5-proz. Salpetersäure 10—15 Sekunden und 3-proz. Salzsäure 5 Sekunden. Nachher abspülen mit Acetonalkohol aa.

Much hat diese Methode auch noch dahin modifiziert, daß er das Präparat 1—3mal 48 Stunden in der Methylviolettlösung bei Zimmertemperatur liegen läßt, mit Lugolscher Lösung 10—12 Minuten übergießt, mit 5-proz. Salpetersäure 1 Minute und 3-proz. Salzsäure 10 Sekunden entfärbt.

Ich habe die beiden letztgenannten Methoden an vielen Präparaten ausprobiert, jedoch nie irgendwelche Unterschiede konstatieren können. Zu den weiteren Untersuchungen wurde daher die letztere, umständlichere Methode fallen gelassen.

Ich versuchte anfänglich auch, die Präparate mit einer 5-proz. Phenollösung vorzubereiten, jedoch auch, ohne Unterschiede von der üblichen Färbeweise zu erkennen.

c) Methode von Gasis.

Gasis hat 2 neue Methoden ausgearbeitet, die er zur Färbung von Tuberkelbacillen empfiehlt. Beide bauen sich auf der Alkalifestigkeit des Tuberkelbacillus auf. Da die später von Gasis modifizierte Methode umständlicher ist und zudem schlechtere Bilder geben soll, als die zuerst angegebene, ließ ich es bei dieser bewenden. Sie wurde wie folgt angewandt:

Färben des Präparates in 5 ccm einer 1-proz. Eosinlösung, die mit einem linsengroßen Stück Quecksilberchlorid bis zur völligen Sättigung aufgeköcht wurde. Gasis gibt die Färbezeit auf 1—2 Minuten an. Ich mußte immer bedeutend länger färben, um gute Bilder zu erhalten. Abspülen mit Wasser, dann Entfärben in einer Mischung von 0,5 g Natriumhydroxyd, 1,0 g Kaliumjodid, 100 ccm 50-proz. Alkohol, bis an Stelle der roten Farbe eine weißlichgrüne auftritt. Dann abspülen mit Alkohol absol., nachspülen mit Wasser und nachfärben mit Methylenblaulösung wenige Sekunden. (1 g kristallisiertes Methylenblau, 10 ccm Alkohol absol., 0,5 ccm Salzsäure, 90 ccm Aqua dest.)

Die Farblösung wurde jedesmal vor Gebrauch in einem Reagensglas frisch zubereitet und aufgeköcht. Das Präparat wurde dann mit der heißen Lösung übergossen und die nötige Zeit stehen gelassen.

d) Pikrinsäuremethode nach Spengler.

Das Präparat wurde mit gewöhnlichem Karbolfuchsin (Ziehl) übergossen und in der Flamme erwärmt, nach Dekantierung der Fuchsinlösung mit Pikrinsäure-Alkohol (Essbachs Reagens-Alkohol absol. zu gleichen Teilen) übergossen und einige Sekunden der Einwirkung über-

lassen. Dann mit 60-proz. Alkohol abgespült und mit 15-proz. Salpetersäure 10–15 Sekunden entfärbt. Kontrastfärbung erfolgte mit Pikrinsäure-Alkohol.

Färbung nach Ziehl-Neelsen und Gram-Much.

Im folgenden gebe ich einige Resultate aus den Färbeverfahren nach Ziehl-Neelsen und Gram-Much in vergleichend-tabellarischer Zusammenstellung wieder. Es wurden gleichalterige Kulturen aller Stämme jeweilen nach Zeitintervallen von einigen Tagen untersucht.

1. Stamm Flume.

Färbung nach Ziehl-Neelsen.

Färbung nach Gram-Much.

a) Kultur auf festem Nährboden.

Junge (ca. 5 Tage alte) Kultur.

Kurze Stäbchen, zwar in der Längenausdehnung wechselnd. Größtenteils granuliert. Zahl der Granula etwa 1–5. Nicht granulierten Stäbchen zeigen gleichmäßige, blassere Färbung als die Granula bei granulierten. Abstand der Granula voneinander ziemlich regelmäßig und klein. (Weniger als der Durchmesser eines Granulums.)

Fast alle Stäbchen scheinen in Ketten von 1–5 nahe beisammenliegenden Granula aufgelöst. Selten einzelne Granula im Gesichtsfeld. Farbe der diffus gefärbten Stäbchen etwas blasser als diejenige der Granula bei granulierten.

Ca. 8 Tage alte Kultur.

Stäbchen durchschnittlich etwas länger geworden. Größtenteils granuliert. Selten einzelne Granula. In diesem Falle Granula dann oft mit blaß gefärbten Fortsätzen. Zahl der Granula: 1–5.

Fast alle Stäbchen granuliert. Oft einzelne Granula alleinstehend im Gesichtsfeld. Abstand der Granula voneinander eher etwas größer geworden.

Ca. 14 Tage alte Kultur.

Stäbchen zeigen oft unregelmäßige Krümmung. Oft solche von besonderer Länge. Größtenteils granuliert. Längere Stäbchen haben entsprechend mehr Granula. Zahl der Granula etwa 1–5. Zeigen oft auffallend große Abstände voneinander.

Fast alle Stäbchen granuliert. Einzelne Granula nicht selten. Abstand der Granula voneinander scheint merklich größer geworden zu sein. Zahl der Granula etwa 1–5.

Ca. 3 Wochen alte Kultur.

Ziemlich lange, oft im Zickzack verlaufende Stäbchen. An den Knickungsstellen oft ein besonders großes Granulum. Meiste Stäbchen granuliert. Zahl der Granula etwa 1–7. Diffus gefärbte Stäbchen zeigen oft an den Enden 1–2 undeutliche Granula.

Stäbchen mit ganz vereinzelter Ausnahmen granuliert. An den Umbiegungsstellen der Stäbchen oft ein großes, schwarz gefärbtes Granulum. Gleiches gilt oft auch von den Granula an den Enden der Stäbchen.

Alte (bis 2 Monate alte) Kulturen.

Stäbchen unregelmäßiger in Form und Färbung. Auch oft solche von größerer Dicke. Meiste Stäbchen zeigen etwas unregelmäßig gefärbte Granula.

Fast alle Stäbchen granuliert. Hin und wieder solche, die an den Enden etwas verdickt erscheinen. Die Verdickung zeigt dann eine diffuse, dunkle Färbung.

b) Kultur auf flüssigem Nährboden.

Junge (ca. 10 Tage alte) Kultur.

Lange Stäbchen, die Neigung zu fädigem Auswachsen zeigen, jedoch ohne Verzweigungen. Fast alle Stäbchen mit zahlreichen Granula, die sich durch ihre weite Entfernung voneinander auszeichnen.

Stäbchen größtenteils granuliert. Oft kurze Strecken im Stäbchen diffus gefärbt.

Alte (ca. 45 Tage alte) Kultur¹⁾.

Lange Fäden, vielfach geknickt, ohne Verzweigungen. Granula zahlreich. Oft an den Enden der Stäbchen keulige Anschwellungen, die dann diffuse Färbung zeigen.

Deutlich granulierte Fäden mit keuligen Anschwellungen an den Enden, die diffuse Färbung zeigen. An den Knickungsstellen der Fäden große tiefgefärbte Granula.

2. Stamm Marburg.

Färbung nach Ziehl-Neelsen.

Färbung nach Gram-Much.

a) Kultur auf festem Nährboden.

Junge (ca. 5 Tage alte) Kultur.

Stäbchen länger als bei Stamm Fiume. Weist unregelmäßige Krümmungen auf. Der größeren Länge des Stäbchens entsprechen mehr Granula. Zahl der Granula: 1—8.

Alle Stäbchen granuliert. Granula zeigen nicht selten Größenunterschiede. Kleinere Granula besitzen oft eine zur Stäbchenachse etwas verschobene Lage. Selten einzelne Granula. Zahl: ca. 1—8.

Ca. 8 Tage alte Kultur.

Stäbchen etwas länger geworden. Fast alle Stäbchen granuliert. Zahl der Granula ungefähr gleich geblieben. Selten einzelne Granula.

Alle Stäbchen granuliert. Granula an den Enden oft besonders deutlich gefärbt und etwas größer. Oft einzelne Granula im Gesichtsfelde.

Ca. 14 Tage alte Kultur.

Lange, unregelmäßig gebogene (selten geknickte) Stäbchen. Größtenteils granuliert. Oft liegen im Gesichtsfelde einzelne Granula, die wiederum einen blaß gefärbten Fortsatz in Form eines kurzen Stäbchens aufweisen können.

Fast alle Stäbchen in eine Reihe von Granula aufgelöst. Häufig einzelne lose herumliegende Granula.

Ca. 3 Wochen alte Kultur.

Lange, unregelmäßig gekrümmte Stäbchen. Hin und wieder treten auch diffus gefärbte auf. Zwischen den deutlich und scharf granulierten und diffus gefärbten sind alle Uebergänge vorhanden.

Stäbchen granuliert. Hin und wieder auch diffus gefärbt. Einzelne Granula oft vorhanden. Granula an den Enden der Stäbchen oft besonders groß und intensiv gefärbt.

Alte (ca. 2 Monate alte) Kultur.

Keine hervortretenden Besonderheiten.

Auffallend häufig einzelne oder auch unregelmäßig in Gruppen zusammenge-würfelte Granulahäufchen.

b) Kultur auf flüssigem Nährboden.

Junge (ca. 10 Tage alte) Kultur.

Lange, schlanke Stäbchen, fadenförmig ausgezogen. Granuliert. Granula in ziemlich großen Abständen angeordnet. Formen oft geknickt. Granula an den Umbiegestellen oft besonders deutlich.

Lange Granulaketten. Enden oft etwas angeschwollen und dabei dann diffus tingiert. An den Umbiegestellen oft ein einzelnes stark hervortretendes Granulum.

Alte (ca. 45 Tage alte) Kultur.

Granulierte Fäden, selten auch diffus gefärbt. Oft schwache keulige Anschwellungen an den Enden. Einzelne Granula vorhanden, jedoch selten.

Lange Granulaketten. Diffus gefärbte Fäden selten vorhanden. An den Enden oft deutliche Anschwellungen, die diffus gefärbt sind. Ziemlich häufig einzeln im Gesichtsfelde zerstreute Granula.

1) Da das Kultivieren auf flüssigen Nährböden Schwierigkeiten bot, mußten die Versuche mit Kulturen nach aufsteigendem Alter beschränkt werden. Es wurden also jüngere und ältere Bacillen jeweilen aus ein und demselben Kulturkolben untersucht.

3. Stamm Kopenhagen.

Färbung nach Ziehl-Neelsen.

Färbung nach Gram-Much.

a) Kultur auf festem Nährboden.**Junge (ca. 5 Tage alte) Kultur.**

Kurze, in der Längenausdehnung ziemlich regelmäßige Stäbchen. Meist übereinstimmend kommaförmig gebogen. Deutlich und regelmäßig granuliert. Granula in der Zahl von 1—4.

Alle Stäbchen granuliert. Granula besonders regelmäßig in Größe und Abstand. Lagerung perlschnurartig. Lose herumliegende Granula kaum vorhanden. Zahl: ca. 1—4.

Ca. 8 Tage alte Kultur.

Stäbchen etwas länger. Die Regelmäßigkeit in Länge und Krümmung verliert sich etwas. Immerhin zeigt das Bild (verglichen mit gleichalterigen Kulturen anderer Stämme) ziemliche Einheit in den Formen. Granula oft einzeln, oft auch einzeln in ein kurzes Stäbchen eingeschlossen. Zahl der Granula ist im Mittel ungefähr gleich geblieben.

Alle Stäbchen granuliert. Granula oft einzeln zerstreut im Gesichtsfeld. Nicht selten sind kleine, unregelmäßige Häufchen von Granula.

Ca. 14 Tage alte Kultur.

Stäbchen beginnen unregelmäßige Krümmungen aufzuweisen. Desgleichen wird die Längsausdehnung unregelmäßiger. Zahl der Granula eher etwas größer geworden, desgleichen ihr Abstand voneinander. Diffus gefärbte Stäbchen vorhanden.

Alle Stäbchen granuliert. Granula an den Polen oft besonders deutlich. Oft einzelne Granula.

Ca. 3 Wochen alte Kultur.

Das Bild zeigt wenige Veränderungen. Hin und wieder treten einzelne Granula auf, oft auch ist ein stäbchenförmiger Fortsatz erkennbar.

Alle Stäbchen granuliert. Viele einzeln im Gesichtsfelde zerstreute Granula vorhanden.

Alte (ca. 2 Monate alte) Kultur.

Stäbchen unregelmäßig gekrümmt, nicht selten auch geknickt. Meiste Stäbchen granuliert. Hin und wieder auch diffus gefärbte. Oft einzelne Granula allein oder in ein kurzes Stäbchen eingeschlossen.

Stäbchen meist granuliert, doch kommen auch diffus gefärbte vor. Recht oft liegen einzelne Granula im Gesichtsfeld zerstreut.

b) Kultur auf flüssigem Nährboden.**Junge (ca. 10 Tage alte) Kultur.**

Lange, deutlich granuliert Stäbchen. Einige Regelmäßigkeit läßt sich in bezug auf ihre Längenausdehnung erkennen. Diffus gefärbte Stäbchen nicht vorhanden.

Granulaketten, verschiedentlich gekrümmt. Selten einzelne Granula.

Alte (ca. 45 Tage alte) Kultur.

Vielfach geknickte Fäden, oft mit keuligen, tief tingierten Anschwellungen an den Enden. Uebrigster Teil des Fadens granuliert. Zahl der Granula oft bis zu 18. Diffus gefärbte Stäbchen vorhanden.

Alle Stäbchen granuliert. Keulige Anschwellungen an den Enden, die diffuse Färbung aufweisen. Zahl der Granula bis ca. 20.

4. Stamm Lyon.

Färbung nach Ziehl-Neelsen.

Färbung nach Gram-Much.

a) Kultur auf festem Nährboden.**Junge (ca. 5 Tage alte) Kultur.**

Verhältnismäßig lange Stäbchen (ungefähr 2—3 mal so lang wie gleichalterige Bacillen anderer Stämme). Mit wenigen Ausnahmen deutlich granuliert. Zahl der Granula: 2—16.

Alle Stäbchen granuliert. Zahl der Granula bis 16. Einzelne Granula nicht vorhanden.

Ca. 8 Tage alte Kultur.

Das Bild weist gegenüber dem vorhergehenden keine nennenswerten Unterschiede auf.

Keine Besonderheiten.

Ca. 14 Tage alte Kultur.

Die Bacillen wachsen fädig aus mit Windungen und Knickungen. Neben deutlich granulierten Stäbchen liegen oft auch diffus gefärbte oder solche, die zum Teil granuliert, zum Teil volle Färbung zeigen. Zahl der Granula ungefähr gleich geblieben.

Meiste Stäbchen granuliert. Granula an den Polen nicht selten besonders hervortretend. Zahl der Granula ungefähr wie nach Ziehl.

Ca. 3 Wochen alte Kultur.

Lange Fäden. Kurze seitliche Auswüchse lassen auf Neigung zu Verzweigung schließen. Meiste Stäbchen granuliert. Hin und wieder einzelne Granula. Zahl der Granula im Stäbchen sehr verschieden.

Stäbchen fast durchweg granuliert. An Stellen einer beginnenden Verzweigung befindet sich fast regelmäßig ein Granulum.

Alte (ca. 2 Monate alte) Kultur.

Lange Fäden mit deutlichen seitlichen Verzweigungen. Solche oft zwei bis drei. Die meisten Fäden besitzen Granula in großen Abständen voneinander. Viele Fäden sind deutlich granuliert. Bei anderen wieder treten die Granula zurück und verschwinden oft ganz. Diese zeigen dann gleichmäßige Färbung des ganzen Fadens.

Meiste Fäden granuliert. An den Verzweigungsstellen häufig ein besonders großes Granulum. Granula an den Polen besonders deutlich.

b) Kultur auf flüssigem Nährboden.

Junge (ca. 10 Tage alte) Kultur.

Lange Stäbchen, verschiedentlich gekrümmt und geknickt. Die meisten besitzen Granula in großer Zahl.

Granulareihen, wobei die Granula ziemlich große Abstände voneinander zeigen.

Alte (ca. 45 Tage alte) Kultur.

Lange Fäden, die den Eindruck eines Pilzmycels machen. Die meisten Fäden besitzen mehrere seitliche Verzweigungen. Neben deutlich granulierten Fäden gibt es solche, bei denen die Granula nur noch verschwommen sichtbar sind. Die Enden besitzen in den meisten Fällen starke keulige Anschwellungen, die sich durch starke Färbung auszeichnen. Einzelne Granula sind nicht vorhanden.

Lange Fäden, wobei nicht nur die Granula, sondern oft auch der übrige Bacillenleib eine schwach dunkle Färbung aufweist. Zahlreiche Granula in großen Abständen. Fast stets auch befindet sich ein etwas tiefer tingiertes Granulum an den Verzweigungsstellen. Die keuligen Enden sind etwas schwächer gefärbt als die Granula.

Ein wesentliches Fazit aus diesen Färbungen ist, daß die sogenannten Muchschen Granula auch durch die Ziehl-Neelsen'sche Färbemethode darstellbar sind, oder, mit anderen Worten, daß die nach Much darstellbare Substanz identisch ist mit der säurefesten, also nach Ziehl darstellbaren. Nach Gram-Much gefärbt, sind die Bacillen in der Hauptsache in eine Kette von dunkelblauen bis schwarzen Granula aufgelöst, während der übrige Teil des Bacillus oft noch als schwacher Schatten zu sehen ist, oder auch ganz verschwindet. Etwas weniger typisch ist das Bild nach Ziehl. Die Bacillen erscheinen ebenfalls in Granulareihen aufgelöst, jedoch nimmt auch der übrige Teil des Stäbchens an der Färbung in verschieden hohem Grade Anteil. Zwischen Bacillen, bei denen dunkelrote Granula in ein blaßrosarotes Stäbchen eingebettet sind, bis zu solchen, bei denen das Stäbchen deutlich tingiert und die Granula nur noch schwach sichtbar sind oder ganz verschwinden,

sind zumeist alle Uebergänge vorhanden. Bei den Bacillen der Typen humanus und bovinus sind die Muchschen Granula nach Ziehl nicht darstellbar. Ich erkläre mir dies so, daß dort eben in erster Linie die Hülle den Farbstoff verankert und die Säurefestigkeit bedingt, und somit keinen Einblick in das Innere des Bacillus gewährt.

Die verschiedenen Stämme zeigen Unterschiede in der Größe und Form der Stäbchen, keine wesentlichen jedoch in bezug auf die Granula. Echte, deutliche Verzweigungen zeigt nur der Stamm Lyon, und dies hauptsächlich in älteren Bouillonkulturen. Daß es sich tatsächlich um Verzweigungen handelt, nicht etwa um Apposition mehrerer Bacillen, konnte durch Burrische Tuschepräparate mit Sicherheit nachgewiesen werden. Allgemein darf gesagt werden, daß die Bacillen vom Typus gallinaceus (verglichen mit denjenigen der Typen humanus und bovinus) außerordentliche Vielgestaltigkeit der Formen aufweisen, ja sogar oft unter normalen Entwicklungsbedingungen pilzmycelartig auswachsen. Die Vermutung findet dadurch ihre Berechtigung, daß diese Bacillen den niederen Pilzen ziemlich nahestehen.

Die Eigentümlichkeit, daß sowohl bei nach Gram wie nach Ziehl gefärbten Präparaten Granula einzeln vorzukommen scheinen, brachte mich auf den Gedanken, Tuschepräparate nach Burri zu färben. Die Färbung gelang nach Gram bei Einhaltung der üblichen Zeiten. Die Ziehl-Färbung mußte jedoch in dem Sinne modifiziert werden, daß die fixierten Präparate 20 Minuten mit dem heißen Karbolfuchsin in Kontakt blieben. Es blieb mir noch die Vermutung, daß das Eindringen der Farbstoffe in den Bacillenleib durch die Tuscheschicht beeinflußt werde. Tatsächlich zeigten auch einige Präparate bedeutende Unregelmäßigkeiten in der Färbung. Um einwandfreie Resultate zu erhalten, versuchte ich, zuerst gewöhnlich nach Gram bzw. Ziehl gefärbte Präparate nachträglich mit Tusche zu überziehen. Bei einiger Vorsicht und Uebung ließen sich brauchbare Präparate herstellen.

Die Ergebnisse fielen, wie erwartet, aus. Stets, wo einzelne Granula im Gesichtsfelde auftraten, waren sie von einem kurzen Stäbchen umgeben. Einzelne Granula, die den Eindruck von Sporen erwecken könnten, konnten in keinem Falle konstatiert werden.

Ferner konnte durch diese Methode nachgewiesen werden, daß der Vogeltuberkelbacillus in der Säurefestigkeit außerordentliche Schwankungen zeigt. Es traten in Ziehl-Präparaten oft bis zu $\frac{1}{3}$ eines Gesichtsfeldes ganz ungefärbte oder, besser gesagt, durch die Säure ganz entfärbte Stäbchen auf. Andere wiesen wieder blasse bis intensive Färbung auf, wie aus den Tabellen ersichtlich. Auch die Gram-Färbung wies, wenn auch bedeutend weniger, nicht gefärbte Bacillen auf.

Ueber das Wesen und die Bedeutung der Granula kann aus den Resultaten der Ziehl- und Gram-Färbung folgendes gesagt werden: Wichtig ist die Tatsache, daß die Granula von den ersten Stadien der Entwicklung des Vogeltuberkelbacillus an auftreten. Dies spricht dafür, daß sie kaum als Degenerationsprodukte des Bacillus angesehen werden können. Vielmehr sind es differenzierte Teile des Protoplasmas, die den Farbstoff viel intensiver an sich reißen. Die Gram-Färbung, die sich durch ihre Regelmäßigkeit auszeichnet, zeigt neben granulierten oft diffus gefärbte Stäbchen. Uebergänge, wie für die Ziehl-Färbung schon geschildert, sind dabei nicht vorhanden. Zudem sind diese Stäbchen, bei denen also der Farbstoff über den ganzen Bacillenleib verteilt ist, nicht

so tief tingiert, wie die einzelnen Granula bei den granulierten. Dies spricht dafür, daß bei gewissen Entwicklungsbedingungen oder Entwicklungsstufen des Bacillus jene sich intensiv färbenden Protoplasmateile homogen über den ganzen Bacillenleib verteilt sind. Die Frage, ob man die Granula als besonders chromatinreiche Teile anzusehen hat, wie vielfach angenommen wird, möchte ich offen lassen. Jedenfalls hat sie viel für sich. Eine bestimmte Antwort wird erst gegeben werden können, nachdem das Chromatin überhaupt einmal chemisch sicher individualisiert und ein spezifisches, nur ihm zukommendes Färbeverfahren geschaffen ist.

Was die Entwicklungsgeschichte des Bacillus anbetrifft, so kann verfolgt werden, daß ein typisches Wachstum normal nur eine gewisse Zeit stattfindet. Die in etwas älteren Kulturen auftretenden keuligen Enden müssen jedenfalls als Degenerationserscheinungen aufgefaßt werden. Anfänglich haben wir allgemein verhältnismäßig kurze Stäbchen, die durchweg zum weitaus größten Teile Granula aufweisen. Schließlich wachsen die Stäbchen in die Länge, wobei vielfach verfolgt werden kann, daß eine Vermehrung der Granula mit dem Längenwachstum des Bacillus nicht Schritt hält. Die Granula weichen also auseinander. Später muß auch deren Vermehrung stattfinden, denn Bacillen älterer Kulturen zeigen in der Regel mehr Granula. Wie diese vor sich geht, wage ich nicht mit Sicherheit zu behaupten. Doch möchten gewisse Bilder, wobei z. B. ganz nahe neben einem Granulum ein zweites, kleineres gelagert ist, oder sogar mit diesem noch zusammenhängend erscheint, darauf hinweisen, daß sie durch Zerfall der schon vorhandenen Granula entstehen können, wobei dann die entstandenen Teile durch Anlagerung neuer Moleküle auf eine durch unbekannte Einflüsse bestimmte Größe gebracht werden.

Ueber die Sporenfrage muß, gestützt auf die vorliegenden Färbeverfahren, folgendes resultieren: Wie die Tuberkelbacillen der übrigen Typen, besitzt der Vogeltuberkelbacillus, dank seiner Hülle, an und für sich schon eine solche Resistenz wie die mit Sporen, was sich ausdrückt bei Anwendung der Färbeverfahren.

Ich versuchte, die Möllersche Sporenfärbung auf den Vogeltuberkelbacillus zu übertragen, wobei dieselbe nach einiger Modifikation auch gelang. Die Granula werden dabei intensiver gefärbt als der übrige Bacillenleib. Bei näherem Betrachten jedoch entpuppt sich die Möllersche Sporenfärbung im Prinzip als eine etwas veränderte Ziehl-Färbung. Gegen die Sporennatur der Granula spricht auch die Gram-Färbung, und zwar der Umstand, daß der Farbstoff von den Granula leicht und intensiv aufgenommen wird. Daß man die Granula beim Menschen- und Perlsucherreger als Sporen ansprach, wird vielfach dem Umstande zuzuschreiben sein, daß man sie einzeln für sich in den Präparaten sah. Ein gleiches ist auch, wie erwähnt, bei meinen Versuchen häufig vorgekommen, jedoch ein nachträgliches Ueberstreichen der Präparate mit Tusche ließ die Granula, wie früher besprochen, stets in einem kurzen Stäbchen gelagert erscheinen.

Ich untersuchte, ob es nicht gelänge, die Granula aus dem Stäbchenverbande herauszulösen, was wahrscheinlich zustande käme, falls sie Sporen wären. Ich versuchte dies einerseits mechanisch, durch Zerreiben der Bacillen, andererseits chemisch durch Weglösen der fetthaltigen Hülle und des Periplasmas durch Lösungsmittel. Als solche dienten: Alkohol, Aether, Xylol, Wasserstoffsuperoxyd, Kalilauge und Salpetersäure. Nach dem Zerreiben, bzw. nach Einwirkung der Lösungsmitte

wurden Präparate nach Ziehl wie nach Gram-Much gefärbt. Das Resultat war, daß die Bacillen entweder nicht merklich geschädigt waren, oder dann, daß eine strukturlose Masse zurückblieb.

Färbung nach Gasis.

Diese Methode erwies sich nicht als geeignet, feinere, strukturelle Eigentümlichkeiten der Bacillen kenntlich zu machen. Die Bacillen aller Stämme von jüngeren wie älteren Kulturen stellten sich in ihrem Verhalten durchaus gleich. Die Stäbchen erscheinen leuchtend rot. Granula kamen nie zum Vorschein. Es ist nach dem Verhalten der Bacillen bei der Ziehl- und Gram-Färbung, wobei speziell die Granula so energisch auf den Farbstoff reagieren, kaum anzunehmen, daß bei der Gasis-Färbung keine Differenzierung in Granula und übrigen Bacillenleiber eintritt. Vielmehr möchte ich der Ansicht sein, daß der Farbstoff intensiv die Hülle gefärbt hat, so daß das Innere des Bacillus nicht mehr sichtbar wird. Mit Tusche überzogene Präparate ließen, im Gegensatz zur Ziehl-Färbung, erkennen, daß stets verhältnismäßig wenig ungefärbte Stäbchen vorkamen. Der Tuberkelbacillus vom Typus gallinaceus verhält sich also in seiner Festigkeit gegen Natriumhydroxyd regelmäßiger als in der Säurefestigkeit.

Färbung mit der Pikrinsäuremethode von Spengler.

Die Pikrinsäuremethode von Spengler ist im Prinzip eine modifizierte Ziehl-Färbung. Nach Spengler soll sie als Diagnostikum berufen sein, die Färbung nach Ziehl zu verdrängen. Der Unterschied besteht darin, daß das Protoplasma der Bacillen durch Pikrinsäure vor der Färbung gehärtet wird. Meine Ergebnisse nach der Spenglerschen Färbemethode stimmen dementsprechend ungefähr mit den Resultaten aus der Ziehl-Färbung überein. Allgemeine Unterschiede: Das Stäbchen zeigt etwas weniger und oft unvollkommener gefärbte Granula. Hin und wieder zeigt der Bacillus Stellen, die sich durch schlechte Färbung auszeichnen. Die Säurefestigkeit erwies sich übereinstimmend mit den Ziehl-Präparaten.

Färbung nach Giemsa und Diphtheriebacillenfärbung nach Neisser, übertragen auf Tuberkelbacillen.

Um die Natur der Granula auch von anderen Seiten zu beleuchten, versuchte ich, oben benannte Färbemethoden auf die Tuberkelbacillen zu übertragen. Die Färbung nach Giemsa gelang in folgender Weise: Färben der über der Flamme fixierten Präparate während mehrerer Stunden in der Giemsa-Lösung (die käufliche Giemsa-Lösung wurde dabei auf $\frac{1}{5}$ mit Aqua dest. verdünnt). Nachher gründliche Wasserspülung.

Die Bacillen aller Stämme, verschiedenalteriger Kulturen, zeigen dabei folgendes Bild: Das Stäbchen ist schwach violett bis bläulich gefärbt. An einem oder beiden Enden befindet sich ein dunkelblau gefärbtes Korn von der Größe eines Granulums. Das Stäbchen weist axial einen etwas stärker gefärbten Strang auf, der von einem Polkorn zum anderen hinzieht. Kürzere Stäbchen machen demnach einen hantelförmigen Eindruck. Die Bacillen des Stammes Fiume zeigen dieses Bild besonders typisch. Ganz ähnlich verhalten sich auch diejenigen des Stammes Marburg, doch kommer hier

auch Bacillen vor, die ungefähr in der Mitte ein Korn besitzen, während Bacillen des Stammes Kopenhagen deren oft sogar mehrere aufweisen, jedoch immer in viel größeren Abständen als die Muchschen Granula. Die Stäbchen des Stammes Lyon zeichnen sich durch besonders große Polkörner aus; oft ist auch hier im Innern ein einzelnes Korn ausgebildet. Die sehr pleomorphen Bacillen auf flüssigem Nährboden zeigen ein gleiches Verhalten.

Da diese Körner an die Babes-Ernstschen Körper bei den Diphtheriebacillen erinnern, lag es nahe, die Neissersche Diphtheriebacillenfärbung auf die Tuberkelbacillen auszudehnen. Ich führte dieselbe in folgender Weise aus: Färben mit dem essigsauren Methylblau (Neisser) 1 Stunde. Gründliches Wasserspülen. Nachfärben mit Bismarckbraun $\frac{1}{2}$ Stunde. Der Erfolg entsprach wirklich auch demjenigen der Giemsa-Färbung. Die Körner waren tiefblau, das Stäbchen schwach braun gefärbt.

Wahrscheinlich sind diese Körner identisch mit den von Nakamishi bei dem Versuch einer vitalen Tuberkelbacillenfärbung gefundenen Polkörnern. Zum Vergleiche färbte ich nun auch Tuberkelbacillen der Typen humanus und bovinus. Bei beiden trat deutlich Polfärbung auf. Körner im Innern des Bacillus wurden hier nicht gefunden.

Sicher sind diese Körner nicht identisch mit den Muchschen Granula, obwohl sie sich wahrscheinlich auch durch die Muchsche Gram-Methode wie nach Ziehl darstellen lassen, denn die nach Giemsa, beziehungsweise der Diphtheriemethode gefärbten Bacillen besitzen bei Anwendung der Muchschen Methode im Inneren Granula. Aus den Tabellen über letztere Färbungen ist ersichtlich, daß speziell nach der Gram-Färbung oft Granula regelmäßig an den Enden gelagert aufhielten. Es sind dies wahrscheinlich die nach Giemsa bzw. Neisser darstellbaren Polkörner. Es dürften somit diese Körperchen neben den Granula einen weiteren Bestandteil des Tuberkelbacillus ausmachen. Wie diese Körperchen gedeutet werden müssen, läßt sich aus meinen Untersuchungen nicht folgern. Als Degenerationserscheinungen können sie kaum angesehen werden, da sie auch — und dies oft besonders deutlich — in jungen Kulturen auftreten. Möglicherweise handelt es sich auch hier um Anhäufungen von Reservestoffen im Sinne der Babes-Ernstschen Körperchen bei den Diphtheriebacillen.

Untersuchung von Material aus dem Tierkörper.

Die Versuchstiere (Meerschweinchen, Kaninchen und Hühner) wurden intraperitoneal, intramuskulär oder intravenös mit Aufschwemmungen von Tuberkelbacillen aus Reinkulturen geimpft. Aus Lunge, Leber oder Milz wurden Ausstrichpräparate angefertigt und nach Ziehl-Neelsen, Gram-Much, Gasis und Spengler gefärbt. Letztere beiden Methoden erwiesen sich wiederum zum Studium struktureller Details nicht geeignet und wurden daher bald fallen gelassen. Von Interesse wären zweifellos die Färbungen nach Giemsa und Neisser gewesen, jedoch bin ich auf diese erst später gestoßen. Nachfolgende Resultate fallen also auf die Färbungen nach Ziehl-Neelsen und Gram-Much.

Die Bacillen aller Präparate zeigten im wesentlichen die uns aus Reinkulturen schon bekannten Verhältnisse. Die Stäbchen erwiesen sich, nach Ziehl-Neelsen wie nach Gram-Much gefärbt, stets granuliert. Gelegentlich traten im Präparate kleinere Unregelmäßigkeiten

in der Färbung auf, was vielleicht darauf zurückzuführen ist, daß die aus den Organen beim Ausstreichen mitgerissenen Eiweiß- und Mucin-stoffe die Bacillen mehr oder weniger einhüllen und somit der Farbstoff nicht überall die gleiche Aufnahme findet. Ferner konnte konstatiert werden, daß nach Gram gewöhnlich mehr Bacillen im Präparate waren, als nach Ziehl. Es ist dies wohl auf die schon erwähnte, sehr variable Säurefestigkeit des Tuberkelbacillus vom Typus gallinaceus zurückzuführen. Nicht selten traten auch, und zwar besonders deutlich in den Gram-Präparaten, die uns schon bekannten einzelnen Granula auf. In vielen Fällen konnte mehr oder weniger deutlich erkannt werden, daß sie in ein Stäbchen eingelagert sind, in anderen nicht. Die Burrische Tuschemethode konnte hier keine Aufschlüsse liefern, da die Bacillen, wie oben gesagt, in eine Kruste von organischen Substanzen eingelagert sind. Doch dürfte das Vorkommen einzelner sporenartiger Granula schon aus den früheren Ergebnissen in Abrede gestellt werden.

Das Verhalten der Leukocyten gegenüber den Bacillen konnte durch folgenden Versuch klargelegt werden: Es wurden Meerschweinchen mit Aufschwemmungen von Bacillen des Stammes Fiume in physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal infiziert. Mit Hilfe von Glaskapillaren wurde dann nach Zeitintervallen von 12, 24 und 48 Stunden Exsudat an der Injektionsstelle entnommen. Ueber 48 Stunden konnte der Versuch nicht ausgedehnt werden, weil das injizierte Material resorbiert war.

Die nach Ziehl wie Gram-Much gefärbten Präparate enthielten die Bacillen nach 12 Stunden fast sämtlich, nach 24 und 48 Stunden sämtliche eingeschlossen in weiße Blutkörperchen. Die Stäbchen waren nach Ziehl wie Gram granuliert, und wiesen auch nach 48 Stunden keine Schädigungen auf. Nach 24 Stunden lagen sie im Blutkörperchen noch deutlich trennbar nebeneinander, während nach 48 Stunden gegen die Mitte des Blutkörperchens zusammengeballte, granuliert Klumpen sichtbar waren. Die Ziehl-Methode ließ erkennen, daß eine Auflösung der Stäbchen auch hier nicht stattgefunden hatte, da die Granula in blaßrot gefärbte, verschlungene Bacillen eingestreut lagen.

Aus dem Verhalten der Granula im Tierkörper kann über ihre Sporennatur folgendes gesagt werden: Die Tatsache, daß die Granula auch im Tierkörper stets auftreten, spricht gegen ihre Auffassung als Sporen. Es wäre unbegreiflich, was Sporen im Tierkörper, also unter normalen, jedenfalls besten Entwicklungsbedingungen des Bacillus, zu tun hätten. Der Einwand, daß der Tuberkelbacillus vom Typus gallinaceus eben nicht an den Säugetierkörper angepaßt sei, dort also nicht normale Wachstumsbedingungen finde, ist nicht stichhaltig, da die vielen Präparate aller Stämme aus Organen infizierter Hühner stets Uebereinstimmung mit den Präparaten aus dem Säugetierkörper zeigten.

Zusammenfassung.

Zusammenfassend, komme ich zu folgenden Ergebnissen:

1) Der Tuberkelbacillus vom Typus gallinaceus zeichnet sich gegenüber den Bacillen der Typen humanus und bovinus durch seinen Pleomorphismus und seine stark wechselnden Größenverhältnisse aus.

2) Beim Vogeltuberkelbacillus sind die nach Ziehl-Neelsen und mittels einfacher bzw. prolongierter Gram-Färbung (säurefeste und granuläre Form Muchs) darstellbaren Substanzen identisch.

3) Die Säurefestigkeit der Vogeltuberkelbacillen weist bei den einzelnen Individuen große Schwankungen auf: sie sind beständiger in der Festigkeit gegen Natriumhydroxyd (Färbung nach Gasis).

4) Die Granula treten in jungen und alten Reinkulturen, wie auch im Tierkörper, stets auf: sie sind daher keine Degenerationserscheinungen. Die Granula kommen nie aus dem Stäbchenverbande gelöst (also sporenähnlich) vor und zeichnen sich durch besonders leichte Färbbarkeit aus: sie sind daher auch keine Sporen.

5) Die Tuberkelbacillen vom Typus gallinaceus weisen (wie auch diejenigen der Typen humanus und bovinus) nach Giemsa und nach der Diphtheriebacillenfärbung (Neisser) Polfärbung auf. Diese Polkörner (die vereinzelt oft auch im Bacillenleibe auftreten) sind nicht identisch mit den Muchschen Granula, doch sind sie wahrscheinlich auch durch die Muchsche Gram-Methode darstellbar.

Zum Schlusse gestatte ich mir, Herrn Prof. Kolle für die Anregung zu dieser Arbeit und den stets bereitwilligen Rat meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Ferner danke ich auch den Herren L. v. Betegh in Fiume, Prof. v. Behring in Marburg, Prof. Bang in Kopenhagen und Prof. Arloing in Lyon, die mir in gütigem Entgegenkommen Stämme von Vogeltuberkelbacillen zur Verfügung stellten.

Literaturverzeichnis ¹⁾.

- 1) Koch, R., Die Aetiologie der Tuberkulose. (Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 2. 1884.)
- 2) Maffucci, Die Hühnertuberkulose. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11.)
- 3) Coppen, Jones, Ueber die Morphologie und systematische Stellung des Tuberkulosepilzes etc. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 17. 1895.)
- 4) Spengler, Ueber Splittersputa Tuberkulöser. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 49. 1905.)
- 5) —, Artverschiedenheit der Tuberkulose- und Perlsuchtbacillen etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907.)
- 6) Sander, Ueber das Wachstum der Tuberkelbacillen auf pflanzlichen Nährböden. (Arch. f. Hyg. Bd. 16. H. 3.)
- 7) Wladimiroff, Ueber die Biologie des Tuberkelbacillus. (St. Petersburg. med. Wochenschr. 1908. No. 50.)
- 8) Günther, C., Einführung in das Studium der Bakteriologie.
- 9) Preisz, H., Bakteriologie.
- 10) Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.
- 11) Hutya u. Marek, Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. 3. Aufl.
- 12) Much, Ueber die granuläre, nach Ziehl nicht färbbare Form des Tuberkulosevirus. (Beitr. z. Klin. d. Tuberk. Bd. 8. 1907. II. 1.)
- 13) —, Die nach Ziehl nicht darstellbare Form des Tuberkelbacillus. (Berlin. klin. Wochenschr. 1908. No. 14.)
- 14) v. Betegh, Neue differentialdiagnostische Färbemethoden etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908.)
- 15) —, Ueber eine neue Methode zur Darstellung der Tuberkelbacillensporen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49.)

1) Die Arbeit kam im Sommer 1912 zum Abschlusse. Entsprechend ist die Literaturangabe bis zu diesem Zeitpunkte durchgeführt.

- 16) Wirths, Ueber die Muchsche granuläre Form des Tuberkulosevirus. (München. med. Wochenschr. 1908. No. 32.)
- 17) Fontes, Untersuchungen über die chemische Natur der den Tuberkelbacillen eigenen Fett- und Wachsarten etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49.)
- 18) —, Studien über Tuberkulose. (Memor. do Institut. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 1910.)
- 19) Rosenblat, Vergleichende Untersuchungen über neuere Färbungsmethoden der Tuberkelbacillen etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. H. 2.)
- 20) Gasis, Ueber eine neue Reaktion der Tuberkelbacillen und eine darauf begründete differentialdiagnostische Färbemethode derselben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909.)
- 21) Ehrlich, Färbung der Tuberkelbacillen. (Deutsch. med. Wochenschr. 1882.)
- 22) Ziehl, Zur Färbung des Tuberkelbacillus. (Deutsch. med. Wochenschr. 1882.)
- 23) Bittrolf, M., u. Momose, K., Zur Frage des granulären Tuberkulosevirus. (Deutsch. med. Wochenschr. 1912.)
- 24) Miehe, Beiträge zur Biologie, Morphologie und Systematik des Tuberkelbacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 62.)
- 25) Nakanishi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30. 1901.
- 26) Gasis, Ein weiterer Beitrag zu meiner neuen Differentialfärbungsmethode der Tuberkelbacillen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1909. No. 18.)

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der durch fusiforme Bacillen bedingten pyämischen Prozesse¹⁾.

[Aus den Pathologisch-anatomischen und Bakteriologischen Instituten der k. k. Krankenanstalt „Rudolfstiftung“ (Vorstand: Hofrat Prof. Richard Paltauf) und des Kaiser-Jubiläums-Spitals der Stadt Wien (Vorstand: Prof. Rudolf Maresch).]

Von Prof. **Rudolf Maresch.**

Mit 1 Tafel.

Durch fusiforme Bacillen hervorgerufene pyämische Eiterungen sind bisher nur in einer verhältnismäßig geringen Zahl beschrieben worden. Sie sind nicht nur von bakteriologischem Interesse, insbesondere hinsichtlich der Pathogenität dieser Mikroorganismen. Ihre Kenntnis ist auch für den Kliniker und den pathologischen Anatomen von Wichtigkeit.

Zwei im letzten Jahre im Jubiläums-Spital der Stadt Wien beobachtete Fälle veranlassen mich, über diese, wie auch über 3 weitere, früher in der Prosektur der k. k. Krankenanstalt „Rudolfstiftung“ von mir erhobene einschlägige Befunde hier zu berichten.

Fall I.

Im ersten Falle handelt es sich um einen 22-jähr. Schuhmacher, der schon einige Wochen vor seinem, am 7. November 1906 erfolgten Spitalseintritt unter zeitweise auftretenden Schüttelfrösten erkrankt war. Er wurde im Rudolfspital in die damals von Herrn Primarius Dr. Mader geleitete Abteilung aufgenommen. Bald darauf entwickelte sich eine ödematöse Schwellung des rechten Armes, der rechten Gesichtshälfte und der

1) Zum Teil nach einem in der Sitzung der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien am 6. März 1914 gehaltenen Demonstrationsvortrag.

rechten Halsseite sowie auch ein Oedem im oberen rechten Brustabschnitt. Die von Herrn Prof. Alt vorgenommene otiatrische Untersuchung ergab den Befund einer rechtsseitigen Otitis media mit Cholesteatom. Es bestand keine nachweisliche Komplikation von seiten des Warzenfortsatzes oder des Sinus, so daß nur die Möglichkeit angenommen werden konnte, daß es von einer kleinen, wandständigen Sinusthrombose aus zu einem Verschuß am rechten Angulus venosus gekommen sei. Mit Rücksicht auf diesen Befund und den Allgemeinzustand des Patienten mußte von einer operativen Behandlung der Mittelohrentzündung abgesehen werden.

Es entwickelten sich nun auch im weiteren Verlaufe unter beständigen septischen Temperatursteigerungen Verdichtungsherde in den Lungen, bis schließlich nach 3 Wochen ein hochgradiges pleuritisches Exsudat der rechten Seite eine Thorakotomie indizierte (28. Nov. 1906). Bei derselben entleerte sich grünlichgelber, übelriechender Eiter und etwa 14 Tage später wurden nekrotische Lungengewebsstücke durch die Thorakotomiewunde ausgestoßen. Das Exsudat enthielt ein dichtes, aus Kokken und verschieden langen, grampositiven und -negativen Stäbchen und Fäden bestehendes Bakteriengemisch. In aeroben Agarkulturen kam — die anderen Keime überwuchernd — der *Bacillus pyocyaneus* zur Entwicklung.

Ein Schwinden des Fiebers trat nicht ein, Schüttelfröste hielten weiter an.

Erst Mitte Januar 1907 wurde hinter dem rechten Ohre ein kleiner, subperiostaler Abszeß sichtbar und eröffnet. Am 12. Febr. mußte eine abermalige Spaltung eines Abszesses in derselben Gegend vorgenommen werden, von welchem aus auch eine teilweise eitrige Infiltration der Nackenmuskulatur erfolgt war.

Tage darauf entwickelte sich eine Protrusion des linken Bulbus, eine Lähmung des linken N. oculomotorius und unter meningitischen Erscheinungen erfolgte am 14. Febr. der Exitus.

Bei der bakteriologischen Untersuchung des durch die 2. Inzision gewonnenen Eiters gelang es mir vorerst nicht, mikroskopisch in nach Gram und mit Karbolfuchsin gefärbten Präparaten Bakterien zu entdecken, und es blieben auch mit dem Eiter beschickte Agarplatten steril. Da der Patient unterdessen gestorben war, fertigte ich noch vor der Obduktion neue Ausstrichpräparate mit der Leiche entnommenem Eiter an. Sie wurden mit Pyronin-Methylgrün gefärbt und ließen nun deutlich außerordentlich dünne, lange, vielfach verschlungene Fäden erkennen, die sich durch ihre rote Farbe scharf von ihrer Umgebung abhoben (Fig. 1). Erst auf Grund dieses Befundes war ich in der Lage, auch in den früher angefertigten Präparaten Bakterienfäden zu sehen und sie von fädigen Gerinnseln zu unterscheiden.

Aus dem Obduktionsprotokoll wäre folgendes hervorzuheben: Es fand sich eine Nekrose der rechten Schläfenbeinschuppe und eine Vereiterung der Zellen des Warzenfortsatzes mit entsprechender ausgehnter, extraduraler Abszedierung. Ferner eine Thrombophlebitis fast sämtlicher basaler Sinus der harten Hirnhaut, mit Ausnahme des Sinus sigmoideus und transversus sinister. Der Sinus cavernosus der linken Seite war vollständig vereitert, der Stamm und die Aeste der linken Vena ophthalmica thrombophlebitisch verlegt, das orbitale Fettgewebe ödematös. An der Hirnbasis fand sich dickflüssiges, eiteriges Exsudat, namentlich in der Gegend des Chiasma nervorum opticum; die Hypophyse erschien von Eiter umgeben.

Die linke Paukenhöhle war normal, die rechte enthielt nebst Cholesteatombrei mißfarbigen, eiterigen Inhalt. Die rechte Jugularvene war durch einen bräunlichen, organisierten Thrombus verschlossen und auch die Vena brachialis und axillaris dextra wiesen einen organisierten und kanalisierten Thrombus auf. — Beide Lungen bindegewebig fixiert, die rechte in der Gegend der granulierenden Thorakotomiewunde schwartig angewachsen. In der Mitte des rechten Oberlappens saß eine hühner-eigroße, mit jauchigem Eiter und einem Lungensequester erfüllte Abszeß-

höhle, während sich im Oberlappen der linken Seite 3 nebeneinander befindliche, glattwandige Höhlen fanden, die mit weiten Bronchien in offener Verbindung standen. Sie stellten ausgeheilte Abszesse dar und waren von einer zarten, glatten, grauweißen Membran ausgekleidet.

Sonst waren Eiterherde im Körper nicht nachweisbar.

Die mikroskopische Untersuchung des meningealen und thrombophlebitischen Eiters ergab durchweg nur den Befund jener eben erwähnten, nach Gram nicht färbbaren, zarten Fäden. Auch im Eiter aus der rechten Paukenhöhle und aus dem Lungenabszeß im rechten Oberlappen waren diese Bakterienfäden neben zahlreichen anderen, verschiedenartigen Mikroorganismen enthalten.

Ihre Kultivierung aus dem thrombophlebitischen Eiter gelang verhältnismäßig leicht unter anaëroben Bedingungen in Nährböden, denen Traubenzucker und Serum zugesetzt worden war. Es entwickelten sich in festen (Agar-)Nährböden, nach 24 Stunden erst sichtbar werdend, in der Tiefe der Impfstiche rundliche, weißliche, locker gefügte Kolonien und in der Kuppe der Epruvetten mit flüssigen Nährböden (es wurde auch Serum-Zucker-Bouillon mit eingetragenen Leberstückchen verwendet) kleinen Wattekügelchen nicht unähnliche Ballen, neben denen in älteren Kulturen auch noch ein weißlicher, sedimentartiger Belag sichtbar wurde (Fig. 2).

Gasbildung trat nicht auf, Milch gerann spät. Die Kulturen verbreiteten nach einiger Zeit einen fötiden Geruch. Ihre Lebensdauer war nicht groß, so daß jeden 4.—5. Tag Ueberimpfungen vorgenommen werden mußten.

Mikroskopisch bestanden die Kolonien aus einem Gewirr dünner, langer, vielfach gewundener und untereinander verschlungener Fäden (Fig. 3). Diese ließen zum Teil keine Segmentierung erkennen, setzten sich aber stellenweise deutlich aus längeren, dünnen Einzelgliedern zusammen, die in älteren Kulturen sich auch in verschieden großer Zahl neben den Fäden isoliert vorfanden und zugespitzte Enden aufwiesen. Spindelige Auftreibungen in der Mitte der Bacillen nahmen in alten Kulturen deutlich zu und charakterisierten offenbar die Degenerationsformen. Denn in Kulturen, von denen eine Ueberimpfung nicht mehr gelang, waren neben besonders dünnen, schlecht färbbaren Fäden auch solche vorhanden, deren Glieder, ebenso wie die isolierten Stäbchen, starke spindelige Auftreibungen erkennen ließen.

Es gelang nicht, auch an Material aus frischeren Kulturen, eine Eigenbewegung der Bakterien mit Sicherheit zu beobachten. Die Gram-Färbung nahmen sie nicht an.

Für die gewöhnlichen kleinen Laboratoriumstiere war der Mikroorganismus nicht pathogen. Auch ein *Macacus Rhesus* blieb nach intravenöser Injektion gesund.

Was den histologischen Nachweis betrifft, so ist es bei der außerordentlichen Zartheit der Fäden verständlich, daß derselbe schwierig ist und man in den eiterigen Belägen und im Granulationsgewebe entweder keine oder nicht sehr zahlreiche Fäden deutlich erkennen kann, wenn man die histologischen Schnitte in gewöhnlicher Weise mit Anilinfarben behandelt hat. Dieser Umstand veranlaßte mich, die Methode Levaditis in diesem Falle zur Anwendung zu bringen. Der Erfolg war ein überraschender. Nicht nur im Eiter, sondern auch im benachbarten, entzündlich infiltrierten Gewebe ließen sich außerordentlich reichliche,

verschlungene, dichte Knäuel bildende Fäden in den Schnitten nachweisen, und zwar in einer Reichhaltigkeit, die selbst nach dem Befund an Ausstrichpräparaten nicht zu erwarten war. Die Abbildung (Fig. 5) zeigt solche mit Silber imprägnierte Fäden in einem Teil der bindegewebigen Umhüllung der Hypophyse und des Diaphragma sellae turcicae, woselbst es vom vereiterten Sinus cavernosus her zu einer eitrigen Infiltration gekommen war. Dieselben Befunde bot das Granulationsgewebe der Abszeßwand in der Hinterhauptsgegend und die Wand der thrombophlebitisch erkrankten Blutleiter. Man kann bei der Betrachtung solcher histologischer Bilder sich des Eindrucks nicht erwehren, daß man es hier mit einem exquisit pathogenen Bakterium zu tun hat.

Dieser Fall stellt sich danach als eine von einer eiterigen Mittelohrentzündung ausgehende, pyämische Erkrankung dar. Ob das fusiforme Bakterium das Zustandekommen der ersten Sinusaffektion, die Thrombose der Halsvenen und die folgenden Lungenabszesse im Verein mit anderen Bakterien oder ohne solche selbständig ausgelöst hat, läßt sich nicht entscheiden. Zweifellos ist jedoch die viel später aufgetretene Vereiterung der Zellen des Warzenfortsatzes, die Schädeldecken- und Nackenphlegmone sowie die tödliche Thrombophlebitis der Duralsinus und die Leptomeningitis nur durch dieses eigenartige Bakterium allein hervorgerufen worden.

Einmal auf dasselbe aufmerksam gemacht, gelang mir etwa ein Jahr später der mikroskopische Nachweis desselben in einem zweiten Falle von pyämischer Eiterung. Diese Beobachtung war kurz folgende:

Fall II.

Ein 17-jähr. Schlosserlehrling kam am 5. Febr. 1908 nach kurzem Aufenthalt in der I. med. Abteilung der Krankenanstalt „Rudolfstiftung“ unter der Diagnose einer Darmtuberkulose und wahrscheinlicher konsekutiver Perforationsperitonitis zur Obduktion.

Eine tuberkulöse Affektion war nicht vorhanden, dagegen erwies sich die Leber von zahlreichen pylophlebitischen Abszessen durchsetzt. Als Ausgangspunkt dieser Eiterung mußte mit größter Wahrscheinlichkeit der Wurmfortsatz angesehen werden. Derselbe war zum Teil obliteriert, mit der Umgebung durch derbe, bindegewebige Adhäsionsmembranen verlötet und ließ in den nicht obliterierten Teilen einen sanguinolent-eitrigen Inhalt und schwartig verdickte Wandschichten erkennen.

Nachträglich stellte es sich auch heraus, daß der Verstorbene fast während seiner ganzen Lehrlingszeit (3 Jahre hindurch) wiederholt an Unterleibsbeschwerden, die auch mit Erbrechen einhergingen, gelitten hatte. 6 Wochen vor seinem Tode war er mit Schüttelfrost erkrankt.

Der fätid riechende Eiter aus den Leberabszessen enthielt dünne, fädige Bakterien, die den im ersten Falle beschriebenen glichen. Sie ließen sich auch hier in mit Pyronin-Methylgrün gefärbten Deckglaspräparaten sehr deutlich zur Darstellung bringen. Bei dieser Färbung heben sich die rot gefärbten Fäden ziemlich scharf von grauioletten, fädigen Gerinnseln ab, während sie bei anderen Tinktionen (etwa nach Anwendung von verdünntem Karbolfuchsin) bei einiger Aufmerksamkeit wohl sichtbar sind, immerhin aber der Beobachtung leichter entgehen können.

In diesem Falle gelang die Kultivierung des Bakteriums nicht. Die mit dem Eiter beschickten Nährböden blieben vollständig steril, so daß das nur mikroskopisch nachgewiesene Bakterium als der alleinige Erreger der pyämischen Eiterung angesehen werden muß.

Stücke von der Abszeßwand wurden in Formalin fixiert und nach der Methode von Levaditi behandelt. Im Granulationsgewebe wie auch im anhaftenden Abszeßleiter konnten hierauf in Schnitten außerordentlich zahlreiche, verschlungene, schwarze Fäden nachgewiesen werden, die sich von denen des 1. Falles in keiner Weise unterschieden.

Die Uebereinstimmung der Deckglasbefunde und der Resultate der Methode Levaditis rechtfertigen die Annahme, daß die Bakterien beider Fälle zum mindesten nahe verwandt, wenn nicht identisch sind und der Gruppe der fusiformen Bacillen angehören. In dieser Annahme bestärkte mich eine im folgenden Jahre (1909) erschienene Mitteilung von Ghon und Mucha.

Ghon, dem wir eine Reihe wertvoller Arbeiten über pathogene, anaërobe Bakterien verdanken, beschrieb in dieser Mitteilung im Verein mit Mucha zur Gruppe der fusiformen Bacillen gehörige Bakterien, welche in 3 Fällen pyämische Eiterungen hervorgerufen hatten.

In dem 1. Falle, dem bronchiektatische Kavernen zugrunde lagen, wurde im Gehirn- und Meningitis-Eiter sowohl mikroskopisch wie auch kulturell ein in charakteristischer Weise zu „peitschenartig“ gewundenen, gegliederten Fäden auswachsendes Bakterium nachgewiesen, welches auch nach seinem kulturellen Verhalten dem von mir beobachteten zweifellos nahestand und vermutlich mit demselben identisch war. Hier gelang den Autoren nur der Nachweis des Bakteriums in histologischen Schnitten nicht. Im 2. Fall, in dem der pyämische Prozeß wohl von einer Appendicitis seinen Ausgang genommen hatte, und der auch wegen seines besonders langwierigen Verlaufes und der aufgefundenen Ausheilungsvorgänge von anatomischem und klinischem Interesse war, wurde der Erreger in Deckglaspräparaten und in Schnitten, nicht aber kulturell, nachgewiesen. Ebenso mißlang — infolge Anwendung von Nährmedien ohne Serumzusatz — der kulturelle Nachweis in einem 3. Falle von pyämischer, nach einer Appendicitis aufgetretenen Eiterung. In diesem letzteren Falle waren neben den charakteristischen Fäden auch noch Streptokokken nachweisbar. Zweifellos war jedoch in allen 3 Beobachtungen das, wenn auch zum Teil nur mikroskopisch, so doch sehr reichlich nachweisbare, fädige Bakterium für das Zustandekommen der sekundären Eiterungen von Bedeutung. Und obgleich die Identität der Erreger in den beiden letzten Fällen mit dem im 1. Fall entdeckten Ghon-Muchaschen Bacillus nicht in absolut einwandfreier Weise festgestellt werden konnte, so kann es doch wohl keinem Zweifel unterliegen, daß sie alle der Gruppe der fusiformen Bacillen zuzurechnen sind.

Bevor ich auf die wenigen anderen, seither von anderen Autoren mitgeteilten einschlägigen Beobachtungen eingehe, möchte ich noch in Kürze über die weiteren von mir beobachteten Fälle der Reihe nach berichten:

Fall III.

Ein 68-jähr. Mann wurde am 22. Aug. 1910 hoch fiebernd in die I. chirurgische Abteilung des Rudolfspitals aufgenommen, nachdem er 4 Wochen vorher mit Schmerzen im Unterleib erkrankt war. Es ließ sich eine beträchtliche Vergrößerung der Leber und eine große Schmerzhaftigkeit in der Lebergegend konstatieren. Am 7. Sept. entschloß sich, da die hohen Temperaturen anhielten, Primarius Doz. Funke zu einer Probelaparotomie, bei welcher am vorderen Rande der Leber derbe, unlösliche Adhäsionen in der Gallenblasengegend aufgefunden wurden. Bald nach diesem operativen Eingriff trat schwerer Ikterus auf und die Symptome einer rechtsseitigen Pleuritis.

Durch Punktion im 6. rechten Intercostalraum wurde aus der Lebergegend dicker, gelblicher Eiter gewonnen. Es ist bemerkenswert, daß sich bei der damals von anderer Seite durchgeführten Untersuchung des Eiters weder mikroskopisch, noch kulturell Bakterien haben nachweisen lassen. Am 22. Okt., nach 4-monatiger Krankheitsdauer, erfolgte der Exitus.

Bei der Obduktion war das Quercolon und die Flexura hepatica am vorderen Leberrand und den Bauchdecken fixiert. Beim Versuche, die Adhäsionen zu lösen, quoll aus der Gegend der Leberpforte reichlich gelbgrüner, dickflüssiger, fäulnisgeruchender Eiter hervor. Im Grunde dieses Eitercavums lag das mächtig verdickte und von Eitergängen durchsetzte Ligamentum hepatoduodenale. Das Lumen der Pfortader war zum größten Teil mit vereiterten Thromben verlegt. Der Ductus choledochus ohne pathologische Veränderung. Die weitere Präparation des Pfortadergebietes zeigte, daß die Milzvenen und der größte Teil der mesenterialen Venen an dem phlebitischen Prozeß nicht beteiligt waren und die vereiterten Thromben sich nur längs der Vena colica dextra bis zur Vena appendicularis verfolgen ließen, woselbst sich eine retrocökal gelegene Eiterhöhle befand. In der Wand der letzteren war der chronisch entzündlich veränderte und zum Teil schwielige, mißfarbige Rest des Wurmfortsatzes nachzuweisen. Aber auch die Vena gastroepiploica war mit vereiterten Thromben erfüllt. Sie setzte sich bis in die Aeste im Bereiche der Magenwand fort, und hier war es im pylorischen Teil des Magens wie auch im Anfangsteil des Duodenums zu Darmwandabszessen gekommen. Die Leber erschien von verschiedenen großen, pylephlebitischen Abszessen vollständig durchsetzt, die dickflüssigen, grünlichgelben, fäulnisgeruchenden Eiter enthielten und teilweise mit pyogenen Membranen ausgekleidet waren. Im rechten Lappen waren Abszesse zu einem über faustgroßen Cavum konfluiert.

Sonst wäre außer einem schweren, allgemeinen Ikterus und einer hochgradigen, parenchymatösen Entartung der Organe eine rezente hämorrhagische, rechtsseitige Pleuritis aus dem Obduktionsbefund zu erwähnen.

Auch in diesem Falle zeigte die mikroskopische Untersuchung, daß der Eiter aus den Pfortaderästen und den Leberabszessen jene charakteristisch verschlungenen, dünnen Bakterienfäden in großer Menge enthielt. In Levaditi-Präparaten waren dieselben auch an Querschnitten durch die Vena appendicularis und in der Wand der retrocöcalen Abszeßhöhle mit großer Deutlichkeit nachweisbar.

Der Versuch, das Bakterium auf serumhaltigen Nährböden unter Sauerstoffabschluß zu kultivieren, mißlang insofern, als neben den fusiformen Bacillen auch noch *Bacterium coli* aufging. Doch konnte man am Boden der Eprouvetten mit Traubenzucker-Serum-Bouillon nach einigen Tagen die eigenartigen, lockeren, watteähnlichen Ballen beobachten, die sich mikroskopisch als aus einem dichten Gewirr feinsten, gegliederter Fäden bestehend erwiesen. Das Bakterium zeigte morphologisch durchaus dasselbe Verhalten, wie das im 1. Falle beschriebene und stimmte allem Anschein nach auch mit dem Ghon-Muchaschen fusiformen Bacillus überein. — Die Isolierung desselben gelang nicht, doch war es möglich, es in Mischkultur einigemal mit Erfolg auf frische Nährböden zu übertragen.

Danach wäre von diesen 3 ersten Fällen meiner Beobachtung der 3. Fall dem 1. an die Seite zu stellen — soweit sich aus dem morphologischen Verhalten und der Mischkultur ein Schluß ziehen läßt; der Erreger der pyämischen Eiterung im 1. Falle kann als mit dem Ghon-Muchaschen Bacillus identisch, der des 3. Falles nur vermutungsweise als solcher bezeichnet werden. (Von dem im 2. Falle nachgewiesenen Bakterium läßt sich, da seine kulturelle Darstellung nicht gelang, nur behaupten, daß es zur Gruppe der fusiformen Bakterien gehört.)

Die beiden folgenden, letzten Fälle sind nun auch dadurch bemerkenswert, daß die den pyämischen Prozessen zugrunde liegenden Bakterien deutlich, wenn auch nicht wesentlich, sich von denen des 1. Falles unterscheiden.

Fall IV.

Eine 51-jähr. Frau, die im September 1913 eine vorübergehende „Blinddarmreizung“ überstanden haben soll, erkrankte am 22. Dez. desselben Jahres mit Erbrechen, Unterleibsschmerzen und Schüttelfrost. Am folgenden Tage wurde in der chirurgischen Abteilung des Kaiser-Jubiläumsspitals der gangränöse Wurmfortsatz mit dem deutlich infiltrierten Mesenteriolum entfernt. Der die Operation vornehmende Assistent, Herr Dr. Roič, bemerkte, daß an der Abtragungsstelle — am Grunde des Mesenteriolums — noch eine kleine, infiltrierte Partie desselben zurückgelassen werden mußte. Nach reaktionslosem Wundverlauf wurde die Patientin entlassen. Es stellte sich aber Appetitlosigkeit und zeitweilig Fieber ein, wodurch die Patientin veranlaßt wurde, am 24. Jan. 1914 neuerlich das Krankenhaus aufzusuchen. Sie wurde, da kein Anlaß zu einem operativen Eingriff vorzuliegen schien, am 28. Jan. in die interne Abteilung des Herrn Primarius Doz. Reitter transferiert. Hier entwickelte sich das klinische Bild einer Pyämie. Es bestand Ikterus, Fieber und zeitweise Schüttelfrost, später eine Vergrößerung und Druckschmerzhaftigkeit der Leber, ab und zu Singultus und Erbrechen. Am 21. Febr. trat der Exitus ein. Die Diagnose einer Pylephlebitis mit Leberabszessen fand bei der am folgenden Tage vorgenommenen Obduktion ihre volle Bestätigung.

Der anatomische Befund glich im wesentlichen dem des vorhergehenden Falles (III) insofern, als an der Abtragungsstelle der Appendix ein ca. hühnereigroßer, retrocöcal gelegener, abgeschlossener Abszeß seinen Sitz hatte, von welchem aus entlang der Vena colica dextra sich eine eitrige Thrombophlebitis bis zum Hauptstamm der Pfortader verfolgen ließ. Letztere war durch wandständige Thromben teilweise verlegt und die Leber von zahlreichen pylephlebitischen Eiterherden durchsetzt. Aus den bis nußgroßen, mit einer dünnen pyogenen Membran versehenen Abszessen entleerte sich ein gelblicher, ziemlich dickflüssiger, fötid riechender Eiter.

Auch die bakteriologische Untersuchung erbrachte den Befund, der auf Grund der eben mitgeteilten Fälle mit einiger Wahrscheinlichkeit erwartet wurde, denn es ließen sich in den verschiedenen Eiterherden (Venenstämme und Leberabszesse) mikroskopisch nur Bakterienfäden nachweisen, die mit den obengeschilderten die größte Ähnlichkeit hatten. Nur waren sie im Vergleich zu den Fäden des ersten Falles fast durchweg etwas kürzer, und es hatte auch den Anschein, als ob sie nicht wie jene in so reichliche Windungen gelegt wären. Ihre Segmentierung trat vielfach sehr deutlich zutage, ebenso wie auch hier und da eine leicht spindelige Anschwellung in der Mitte der einzelnen Glieder angedeutet war.

Das Bakterium ging in Kulturen, die vom Veneneiter in traubenzuckerhaltigen, mit Serum versetzten Nährmedien angelegt worden waren, rein auf, während sich aus dem Leberabszeßeiter in einigen Röhrchen neben dem reichlich wachsenden *Bacillus fusiformis* auch noch ein gramnegatives, schwach bewegliches Stäbchen entwickelt hatte. Dasselbe erwies sich als *Bacterium coli*. Diese Beimengung war wohl auf den Umstand zu beziehen, daß der von der Schnittfläche der Leber hervorquellende Eiter in diesem Falle nicht mit den entsprechenden Kautelen aufgefangen werden konnte.

Die erst nach 48 Stunden deutlich in Erscheinung tretenden Kolonien bildeten in der unteren Hälfte der Impfstiche kleine, punktförmige, allmählich bis Stecknadelkopfgröße erlangende, gelblichweiße Granula, und am Boden der Fleischbrüheröhrchen kam es zur Bildung kleiner, lockerer, weißlicher Kügelchen, die jedoch nach 4–6 Tagen — etwas rascher, als es in der ersten Beobachtung der Fall war — zu einem fast gleichmäßigen, die Kuppe der Epruvette füllenden Bodensatz zusammensanken. Damit war auch in der Regel die Lebensfähigkeit der Kulturen erloschen. Sie ließen sich mit Erfolg nur etwa bis zum 4. oder 5. Tage noch überimpfen. Die Kulturen besaßen einen ebensolchen fötiden Geruch, wie der Leberabszeßeiter; Gasbildung trat nicht ein.

Sowohl in den festen, wie auch den flüssigen Nährmedien bildeten, wie Deckglaspräparate zeigten, sich nur mäßig lange, leicht gewundene Fäden aus; zur Entwicklung eines Fasergewirrs, wie es in Fall I und III beobachtet werden konnte und in Fig. 3 abgebildet ist, war es hier nicht gekommen. Man gewann den Eindruck, als ob die Fäden dieses Stammes starrer, weniger biegsam wären. Reichlicher waren isolierte, fusiforme Stäbchen und kürzere, etwa aus 3–8 Elementen sich zusammensetzende Fäden. Verzweigungen fehlten. Die Grenzen der einzelnen Glieder waren oft deutlich ausgesprochen und durch von Strecke zu Strecke auftretende Verjüngungen markiert.

Weiter konnte noch die Beobachtung gemacht werden, daß nach Karbolfuchsinfärbung in dem blaßrot erscheinenden Bakterienleib der Stäbchen ein die Mitte derselben einnehmendes, dunkelrotes Korn sichtbar war. Längere Exemplare enthielten öfter 2 derartige Bildungen und in den Fäden waren dieselben in regelmäßigen Abständen verteilt. Diese auch für die fusiformen Bacillen der Plaut-Vincentischen Angina charakteristischen, auch wohl als Kerne gedeuteten Gebilde waren in den Bakterien der früher beobachteten Fälle nicht aufgefallen. Sie nahmen auch in Giemsa-Präparaten einen azurvioletten Farbenton an und hoben sich scharf von dem blaßblau gefärbten übrigen Bakterienleib ab (Fig. 5).

Auch nach diesem morphologischen Verhalten müssen die Erreger der pyämischen Eiterung in diesem Falle zweifellos zur Gruppe der fusiformen Bacillen gerechnet werden. Erwähnt sei noch, daß sie sich gleichfalls nach der Methode Levaditis in histologischen Präparaten sehr deutlich zur Darstellung bringen ließen.

Eine vollkommen analoge Beobachtung stellt der letzte Fall dar.

Fall V.

Ein 50-jähr. Mann litt seit Dezember 1914 an häufig wiederkehrenden, in der Regel nur einen Tag dauernden Schmerzen im Unterleib. Infolge vollständiger Appetitlosigkeit und öfteren Erbrechens hatte er zur Zeit seiner (am 20. Jan. 1915 erfolgten) Spitalaufnahme um 12 kg an Körpergewicht abgenommen. Aus der mir vom Herrn Primarius Doz. Reitter freundlichst zur Einsichtnahme überlassenen Krankengeschichte sei hier nur angeführt, daß der Patient über klopfende Schmerzen in der Nabelgegend und über „Aufstoßen“ klagte, und häufig besonders nach dem Essen erbrach. Die Körpertemperatur stieg täglich auf 38–39,6°, wiederholt finden sich Schüttelfröste notiert. Nach Schmidtscher Diät enthielt der Stuhl keinen Schleim, kein Bindegewebe, keine färberisch darstellbaren Muskelkerne und war hellgelb, breiig. Bei der vom Vorstand des Röntgen-Institutes, Herrn Dr. Schönfeld, vorgenommenen radiologischen Untersuchung zeigte sich der präpylorische Teil des Magens schmal und in die Länge gezogen, nicht geradlinig begrenzt. Es bestand keine normale Antrumperistaltik. Die Hälfte des Wismutbreies war noch nach Stunden im Magen nachweisbar.

Auf Grund dieses für einen infiltrierenden Prozeß am Pylorus sprechenden Befundes und der im weiteren Verlaufe sich steigenden Beschwerden von seiten des Magens sowie des rasch zunehmenden Marasmus wurde die Diagnose auf ein Pyloruscarcinom gestellt. Der Exitus erfolgte am 23. Febr. 1915.

Die am nächsten Tage vorgenommene Obduktion ergab im wesentlichen folgendes:

In der Peritonealhöhle reichlich mit Eiterflocken untermengte, trübe Flüssigkeit, die Serosa der Darmschlingen gerötet, matt. Das Gekröse verkürzt und verdickt. Die untersten Dünndarmschlingen in der Gegend des Coecums fixiert. Das Quercolon durch das verkürzte Ligamentum gastro-colicum an den Magen herangezogen. Im Mesocolon descendens mehrere, bis kirschgroße, mit dickflüssigem, gelblichem Eiter erfüllte Abszesse.

Der vordere Leberrand am Rippenbogen, an der Oberfläche der Leber zarte, fibrinöseiterige Beläge, unter denselben durch die Kapsel hindurchschimmernde, gelbliche In-

filtrate. Sie entsprechen verschiedenen großen, auch sonst in der Tiefe des Organs verteilten, gelblichgrünen, fäulig riechenden Eiter enthaltenden und mit hellgelben, pyogenen Wandbelägen versehenen Abszessen. Ueber den meisten tiefer gelegenen finden sich keilförmige Infarcierungen des Lebergewebes.

Aus dem Stamm der Vena portae entleert sich gleichfalls eiteriger Inhalt. Das Gefäß ist nicht nur bis in die intrahepatischen Verzweigungen mit vereiterten Thromben erfüllt, sondern es läßt sich dieses Verhalten auch nach abwärts in die Vena mesenterica inferior verfolgen, entlang welcher die erwähnten Abszesse im Mesocolon descendens gelegen sind.

Das Lumen der Vena colica dextra durch bräunliche und rostfarbene, organisierte Thromben verlegt; die nächste Umgebung des Gefäßes schwielig. Querschnitte lassen das Bestehen dieser Veränderung bis hinab zum Coecum erkennen.

Der Wurmfortsatz mit den umgebenden untersten Dünndarmschlingen und dem Coecum durch ein teils weißliches, teils hellgelbes und fettig glänzendes Gewebe verwachsen und in einen dünnen, soliden Strang umgewandelt.

In der Nierengegend bilden beiderseits — besonders aber rechts — die peritonealen Venen dichte, prall gefüllte Gefäßnetze, die eine Verbindung zwischen dem Pfortadergebiet und dem der unteren Hohlvene herstellen.

Der pylorische Teil des Magens enger, die Wand derber, an der Valvula pylorica eine zirkulär verlaufende, weißliche, etwas eingezogene Narbe. Ein Neoplasma (hier auch an Gefrierschnitten) nicht nachweisbar.

Danach waren in diesem Falle die das Krankheitsbild mitbeherrschenden Erscheinungen von seiten des Magens und auch der radiologische Befund durch den Nachweis einer Ulcusnarbe am Pylorus erklärt, während der zum Tode führende Prozeß sich als eine pyämische Eiterung nach einer Wurmfortsatzentzündung darstellte. Die Appendicitis sowie auch die konsekutive Phlebitis der Vena appendicularis und colica dextra waren offenbar schon vor längerer Zeit abgelaufen und die noch bestehende Pylephlebitis hatte einerseits zu Leberabszessen geführt, andererseits retrograd eine eiterige Phlebitis der Vena mesenterica inferior hervorgerufen. — Eine weitere Propagation des pyämischen Prozesses war nicht eingetreten.

Der Venen- und Leberabszeßleiter enthielt nur die bereits wiederholt geschilderten, überaus dünnen, gramnegativen Fäden, deren Kultur in mit Traubenzucker versetzten, serumhaltigen Nährböden leicht gelang. Es kann hier hinsichtlich der Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung — um Wiederholungen zu vermeiden — auf den Fall IV verwiesen werden, da sich die Resultate jener Beobachtung mit den in diesem Falle erhobenen in allen Punkten vollständig decken.

Dies meine Erfahrungen über fusiforme Bacillen als alleinige Erreger pyämischer Eiterungen.

Außer den bereits zitierten Beobachtungen von Ghon und Mucha wären hier aus der Literatur noch folgende weitere einschlägige Mitteilungen hervorzuheben:

Rosenow und Thunnicliff stellten einen fusiformen Bacillus bei einer nach eiteriger Appendicitis aufgetretenen, allgemeinen Pyämie in Reinkultur dar. Derselbe war gramnegativ, unbeweglich, streng anaërob und insofern ein „polymorphic bacillus“, als er auch Spirillenformen annahm und lange Fäden bildete. (Die von den Autoren erwähnten Kokkenformen könnten vermutlich mit den auch von mir in den beiden letzten Fällen beobachteten Innenkörpern der Bacillen identisch sein.) Die Mikroorganismen sollen auch eine große Ähnlichkeit mit Bakterien besessen haben, die Thunnicliff aus dem Munde bei Noma und ähnlichen Erkrankungen gezüchtet hatte.

Frühwald beschrieb (1913) einen Gehirnsabszeß mit eiteriger Meningitis, bei welchem im Eiter fusiforme Bacillen in Reinkultur nachweisbar waren. Der Prozeß hatte bei einem 4-jähr. Kinde von einem kleinen retropharyngealen Abszeß seinen Ausgang genommen, und dieser war durch eine 3 Wochen vor dem Auftreten der ersten meningealen Erscheinungen verschluckte und aus der Pharynxwand extrahierte Nähnadel erzeugt worden.

Ferner beschrieben Kaspar und Kern sehr eingehend 2 durch fusiforme Bacillen hervorgerufene pyämische Prozesse. Dem ersten lag eine Entzündung des Wurmfortsatzes zugrunde, die zu einem fötiden, retrocöcalen Abszeß, zu einer Thrombophlebitis der mesenterialen Venen, der Pfortader und ihrer intrahepatischen Verzweigungen, zu Leber- und Lungenabszessen geführt hatte. In diesem Falle konnten die fusiformen Bacillen als alleinige Erreger der Eiterungen kulturell dargestellt werden. Der Stamm war morphologisch mit dem von Ghon und Mucha beschriebenen identisch und wich nur biologisch insofern ab, als dieses Bakterium, im Gegensatz zu jenem, Indol, Essigsäure und etwas Gas erzeugte, Milch nicht koagulierte. Im zweiten, von Herrn Prof. Schlagenhauer obduzierten Falle konnte der Ausgangspunkt der Septikopyämie nur mit Wahrscheinlichkeit in den Magen verlegt werden. Es fand sich neben einer Phlegmone im Bereiche der Cardia eine Thrombophlebitis der Vena lienalis und portae, ferner eine periliene Eiterung und Milz sowie Leber waren Sitz multipler Abszesse. In den fötid riechenden Kulturen waren neben den fusiformen Bacillen auch andere Bakterien aufgegangen. Eine Isolierung ließ sich nicht durchführen. Kaspar und Kern heben auch die Schwierigkeit der Darstellung des fusiformen Bakteriums in Schnittpräparaten hervor, da es infolge seiner Zartheit und seiner eigentümlichen Form als solches schwer zu erkennen ist und oft sehr Fibrinfäden ähnelt.

Schließlich demonstrierte Ghon im April v. J. multiple, pilephlebitische Abszesse der Leber, die nebst einer Thrombophlebitis der Pfortader und retroperitonealer Phlegmone auf Abszesse in der Schleimhaut des Rectums zurückzuführen waren. Es gelang, aus dem Eiter ein obligat anaërobes Bakterium aus der Gruppe der fusiformen Bacillen zu züchten. Der Fall betraf einen 39-jähr. Mann, welcher mit einem fluktuierenden Tumor der Leber zur Beobachtung kam und 8 Wochen vorher erkrankt war.

Uebersieht man sämtliche hier kurz zitierte und ausführlicher mitgeteilte Beobachtungen mit Rücksicht auf deren klinisches Verhalten und den erhobenen anatomischen und bakteriologischen Befund, so ist zunächst bei der Mehrzahl der Krankheitsbilder der protrahierte Verlauf hervorzuheben. Es sei da auf den ersten, von Ghon und Mucha beobachteten Fall (in der Publikation Fall II) verwiesen, in welchem die vom Wurmfortsatz ausgehende Erkrankung einen über 2 Jahre sich erstreckenden rekrudeszierenden Verlauf genommen hatte. Auch fanden sich bei der Autopsie Narben in der Leber, die als ausgeheilte Abszesse zu deuten waren. Der Fall wurde seines ungewöhnlichen klinischen Verhaltens wegen von Reitter ausführlicher besprochen. Ebenso fanden sich in unserem Fall I und V bereits durch organisierte Thromben verlegte Venen (Vena jugularis dextra resp. colica dextra), die den Weg bezeichneten, den das Pyämievirus vor längerer Zeit zurückgelegt hatte, und wiederholt ließ auch der primäre Entzündungsherd weitgediehene

Rückbildung oder vollständige Heilung erkennen. So etwa auch der Wurmfortsatz im Falle II, und man wird daher nach diesen Beobachtungen bei der ätiologischen Bewertung organisierter, thrombotischer Pfortaderverschlüsse in geeigneten Fällen mit Berechtigung an ausgeheilte, eiterige Pylephlebitiden dieser Art denken können.

Die primären Herde hatten meist im Darmtrakt oder seinen Anhängen ihren Sitz, und zwar je 1 mal im Pharynx (retropharyngealer Abszeß), Mittelohr (Otitis media chronica), Magen, Rectum, 9 mal im Wurmfortsatz (noch bestehende oder abgelaufene gangränöse Appendicitis) und nur 1 mal standen als älteste Veränderungen bronchiektatische Kavernen im Vordergrund.

Der Umstand, daß in dieser Zusammenstellung der Wurmfortsatz in einer verhältnismäßig hohen Zahl den Ausgangspunkt dieser eigenartigen pyämischen Erkrankungen darstellt (über 60 v. H.), findet zunächst in der Häufigkeit gangränöser Wurmfortsatzentzündungen eine naheliegende, suffiziente Erklärung. Bei dem brandigen Zerfall dieses Darmabschnittes spielen aber auch, worauf schon Veillon und Zuber, Runeberg u. a. hingewiesen haben, anaërobe Bakterien und darunter auch fusiforme eine wichtige Rolle.

Eigene, im Laufe mehrerer Jahre an einem größeren Material vorgenommene Untersuchungen haben ergeben, daß sich in Ausstrichpräparaten von der gangränösen Wurmfortsatzwand öfter fusiforme, auch zu gegliederten Fäden ausgewachsene Bacillen nachweisen lassen. Unterzieht man solche in Formol fixierte Appendices der Silberimprägnation nach Levaditi, so kann man histologisch in der Tiefe der Darmwand oft reichlich Bakterienfäden erkennen, die mit anderen Methoden sich entweder nicht oder nicht in dieser Deutlichkeit zur Darstellung bringen lassen. Auf diesen Befund konnte ich schon in einer Diskussion über die Appendicitis während der Tagung der Deutschen Pathologischen Gesellschaft zu Dresden (1907) hinweisen, und zwar auf „Mikroorganismen, die, vielfach zu langen Fäden angeordnet, nicht nur an der Innenfläche, sondern auch in den tieferen Lagen nachweisbar sind“ . . . „sich gerade in den tieferen Schichten ohne Beimengung anderer Bakterien“ finden, „so daß man den Eindruck gewinnt, daß möglicherweise gerade diese Mikroorganismen zum mindesten mit den sekundären Erscheinungen (Nekrose mit folgender Perforation) im Zusammenhang stehen“.

Von den später noch erhobenen einschlägigen Befunden sollen hier nur kurz Präparate besprochen werden, die von einem von Herrn Primarius Doz. H. Salzer bei einem 6-jähr. Kind operativ entfernten Wurmfortsatz angefertigt wurden. Im mißfarbigen, eiterigen Inhalt des zum Teil gangränösen Blinddarmanhanges fanden sich neben anderen Bakterien auch besonders reichlich isolierte, spindelige Stäbchen und längere, gewundene, dünne Fäden, die von Strecke zu Strecke — der Gliederung entsprechend — leichte, spindelige Auftreibungen erkennen ließen. Eine Serie von Levaditi-Präparaten, die von einer Stelle mit beginnender Gangrän angefertigt worden war, zeigte schon bei schwächeren Vergrößerungen einen die ganze Wand durchziehenden, schmalen, schwärzlichen Streifen, der gegen den Ansatz des Mesenteriolums hinzog und sich unter stärkeren Linsensystemen als fast ausschließlich aus gewundenen Fäden bestehend erwies, die das sonst in seiner Struktur noch wohlerhaltene Gewebe durchsetzten. Nur wenige kurze Stäbchen waren in dieser Zone neben den fädigen Bakterien sichtbar, und diese

zeigten eine weitgehende Aehnlichkeit mit den in den oben beschriebenen 5 Fällen nach dieser Methode dargestellten Fäden.

Wenn auch zweifellos eine kulturelle Isolierung und Bestimmung eine einwandfreie eventuelle Identifizierung beider gestatten würde, so läßt doch das morphologische Verhalten im Deckglaspräparat sowie die Erscheinungsform in Levaditi-Präparaten den Schluß zu, daß die in den brandigen Blinddarmanhängen beobachteten Fäden Angehörige der fusiformen Bakteriengruppe sind. Gerade der hier als Beispiel angeführte Befund ist geeignet, zu zeigen, wie fusiforme Bacillen das Gewebe durchsetzen, das Mesenteriolum erreichen und hier in die Vena appendicularis und damit in das Stromgebiet der Pfortader gelangen können.

Es soll hier nicht die Frage erörtert werden, welche Bedeutung unter dem Bakteriengemisch der Gangränflora den fusiformen Bacillen für den Zelltod und Gewebszerfall zukommt, eine Frage, die bei der geringen Tierpathogenität derselben sich nicht völlig einwandsfrei beantworten läßt. Doch geht aus den geschilderten Beobachtungen mit Sicherheit hervor, daß diese Mikroorganismen — von primären jauchigen Herden aus ins Blut gelangt — für sich allein pyämische Eiterungen hervorzurufen imstande sind.

Die überaus dünnen Fäden können leicht übersehen werden, wenn man in einem bestimmten Falle nicht gerade an die Möglichkeit ihres Vorkommens denkt. Es wäre besonders dann nach ihnen zu fahnden, wenn in einem fötid riechenden, eiterigen Exsudat bei flüchtiger Durchmusterung der Ausstrichpräparate sich anscheinend keine Eitererreger vorfinden, jedenfalls das etwa erwartete Bakteriengemisch fehlt. In solchen Fällen bleiben auch die gewöhnlichen Kulturverfahren resultatlos, auch zeigen anaërobe Kulturen ohne Serumzusatz kein Wachstum, und man dürfte nicht fehlgehen, wenn man annimmt, daß so manche aus älteren Eiterherden stammende Exsudate infolge eines negativen Ausfalles der bakteriologischen Untersuchung als „bereits steril geworden“ bezeichnet worden sind, während sie in Wirklichkeit mikroskopisch und kulturell schwerer nachweisbare Bakterien — etwa solche aus der Gruppe der fusiformen Bacillen — enthielten. Für den Nachweis dieser dünnen Fäden in histologischen Schnitten ist die Silberimprägnationsmethode nach Levaditi sehr zu empfehlen.

Literatur.

- Frühwald, *Bacillus fusiformis* als Erreger von Meningitis und Hirnabszeß. (Monatschrift f. Ohrenheilk. 1913. p. 1021.)
 Ghon, Sitzungsber. d. wissensch. Ges. deutsch. Aerzte in Böhmen, vom 24. April 1914. (Wien. klin. Wochenschr. 1914. p. 1006.)
 — u. Mucha, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. p. 493.)
 Kaspar u. Kern, Weitere Beiträge zur Aetiologie der pyämischen Prozesse. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910. p. 97.)
 Maresch, Diskussionsbemerkung. (Verhandl. d. Deutsch. Pathol. Ges. Dresden. 1907. p. 317.)
 Reitter, Sitzungsber. der k. k. Ges. d. Aerzte in Wien. (Wien. klin. Wochenschr. 1904. p. 515.)
 Rosenow and Thunnicliff, Pyaemia due to an anaerobic polymorphic bacillus, probably *Bacillus fusiformis*. (Journ. of infect. Dis. 1912. p. 1.)
 Runeberg, Studien über die bei peritonitischen Infektionen appendikul. Ursprungs vorkommenden sauerstofftoleranten sowie obligat anaëroben Bakterienformen etc. (Arb. a. d. Path. Inst. d. Univ. Helsingfors. Bd. 2. 1908.)
 Veillon et Zuber, Recherches sur quelques microbes strictement anaërobies. (Arch. de méd. expér. 1898.)

Erklärung der Tafelabbildungen.

Fig. 1. Deckglaspräparat vom meningitischen Eiter des Falles I. Mit Pyronin-Methylgrün dargestellte Bakterienfäden.

Fig. 2. 4 Tage alte Traubenzucker-Serum-Bouillonkultur mit eingetragenen Leberstückchen.

Fig. 3. Ausstrich von einer 3-tägigen Bouillonkultur (Methylenblau).

Fig. 4. Randpartie der Hypophyse des Falles I. Nach Levaditi mit Silber imprägnierte Bakterienfäden.

Fig. 5. Ausstrichpräparat von einer 4-tägigen Bouillonkultur, gefärbt nach Giemsa. (Fall IV.)

Nachdruck verboten.

Ueber eine Fleischvergiftungsepidemie durch Bacillen der Gärtner-Gruppe (Rattenschädlinge).

Von Dr. med. **Franz Ickert**,

Vorstand der bakteriologischen Untersuchungsstelle X.

Am 10. Juni 1915 erkrankten plötzlich kurze Zeit nach dem Mittagessen 20 Mann der Besatzung von Ich erhielt zusammen mit unserem Nahrungsmittelchemiker den Auftrag, zu untersuchen, ob eine Vergiftung dieser Massenerkrankung zugrunde lag. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in epidemiologischer und bakteriologischer Hinsicht so interessant, daß ich sie in folgendem der Allgemeinheit mitteile. Die genauen Namen und Daten sind in einem Gutachten für die Militärverwaltung niedergelegt. —

Der behandelnde Truppenarzt teilte uns mit, daß 15 Mann schwer, 5 ganz leicht, augenscheinlich im Anschluß an das Mittagessen (ein Bohnengericht), welches er aber 11³⁰ zufällig gekostet und für gut befunden hätte, erkrankt seien. 40 Mann der Besatzung hätten den ganzen Vormittag ungeschützt in der Sonnenhitze gearbeitet (an einem der heißesten Tage jener Zeit, 36° in der Sonne); von ihnen seien 15 erkrankt, dazu noch 5 andere, die letzteren aber nur leicht. Das Mittagessen holen die Leute zwischen 12 und 1 Uhr in bunter Reihenfolge aus der Mannschaftsküche, jeder in eigenem Eßgeschirr; sie essen auf der Stube. Die Erörterungen der einzelnen Krankheitsfälle ergaben folgendes. Die klinischen Befunde stammen vom Truppenarzte.

1) Es handelt sich um 20 Leute zwischen 26 und 44 Jahren, also nicht nur um Leute einiger weniger Jahrgänge.

2) Die Anamnese ergibt nichts Besonderes. Die wenigen früheren Erkrankungen (Neurasthenie, Gelenkrheumatismus) sind für die jetzige Erkrankung belanglos.

3) Die Leute haben frühzeitig das 1. Frühstück eingenommen, welches teils nur aus Kaffee, teils aus Kaffee und Brot mit oder ohne Butter, mit oder ohne Fleisch oder Wurst bestand — das 1. Frühstück ist so verschieden bei den einzelnen Leuten gewesen, daß man eine gemeinsame Krankheitsursache nicht herauslesen kann. Ein 2. Frühstück hat es nicht gegeben, nur einer hat ein 2. Mal gegessen. Die meisten haben zwischen 7 Uhr morgens bis zum Mittagessen weder Flüssigkeit noch feste Nahrung zu sich genommen. — Ein gemeinsames Getränk vor oder nach Tisch kommt als Krankheitsursache auch nicht in Frage, weil die meisten nichts während der Mittagspause getrunken haben.

4) Die Erkrankten haben in bunter Reihenfolge das Mittagessen geholt, Fall 5

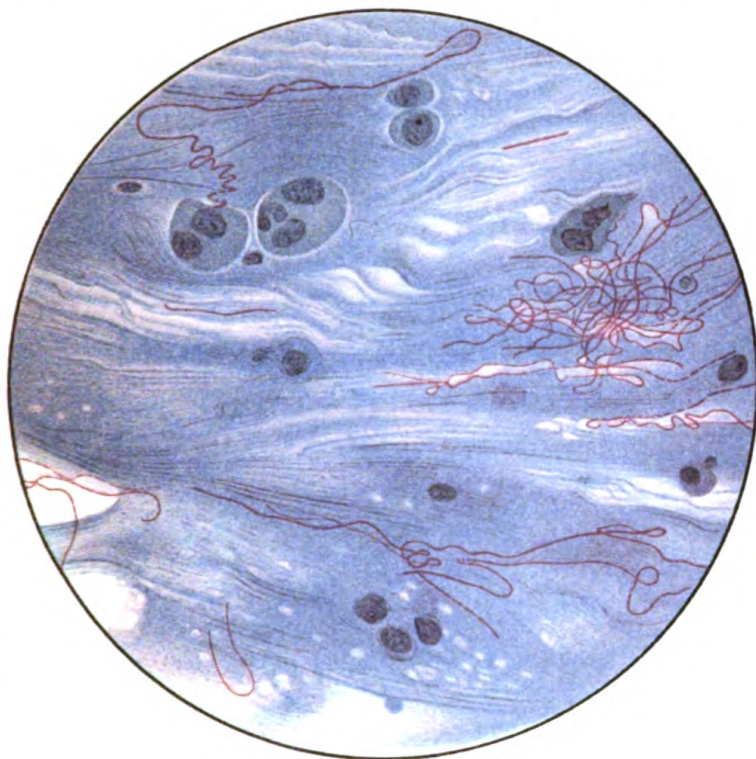


Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 4.



Fig. 5.

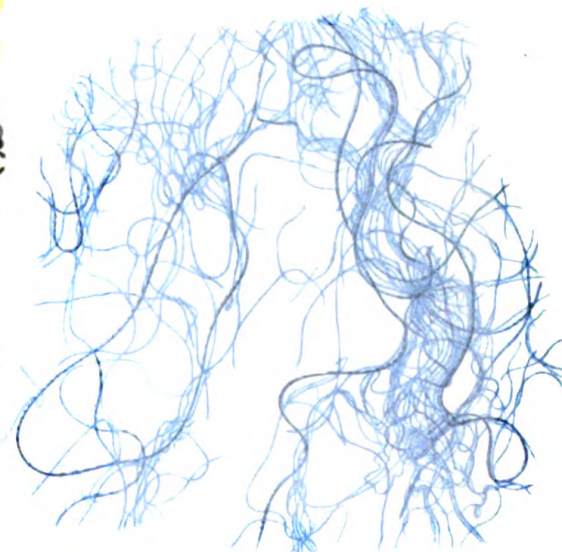


Fig. 3.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Ernst K. Wessner, Jena.

und 6 um 12 Uhr, andere 12¹⁵, 12³⁰, Fall 2 erst gegen 1 Uhr. Es ist danach auszusprechen, daß etwa nur die Leute erkrankt sind, die von den obersten Schichten der Speise im Kessel bekommen haben oder nur aus der Mitte des Kessels oder nur aus dem Bodensatz. Die krankmachende Ursache war demnach gleichmäßig in dem ganzen Kessel Mittagsbrot verteilt.

5) Die ersten Symptome sind $\frac{1}{2}$ – $2\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Mittagessen aufgetreten, nur bei 2 Kranken später (bei Fall 2 um 6 Uhr nachm., bei Fall 12 8³⁰ nachm.). Mit Wahrscheinlichkeit hängt demnach die Krankheitsursache mit dem Mittagessen zusammen, da alle dasselbe Essen bekommen haben. Der plötzliche Beginn so bald nach dem Essen läßt den Verdacht auf irgendwelche Giftwirkung auftauchen. Der Nahrungsmittelchemiker hat die Nahrungsmittelreste auf alle möglichen chemisch wirkenden Gifte mit negativem Erfolge untersucht.

6) Die Symptome. Alle Erkrankungen haben mit Erbrechen begonnen bis auf 2: Fall 8 mit Brechreiz, Fall 15 mit Schmerzen in der Appendixgegend. Fast alle klagten über Uebelkeit, manche über Magen- und Leibschmerzen. Meist lag Verstopfung bis zum nächsten Tage vor. Die Verstopfung schlug dann in Durchfall um, in 2 Fällen ohne Abführmittel, in den anderen Fällen vielleicht infolge der Abführmittel — eigenartig ist aber, daß Kalomel 2 · 0,3 am 1. Tage keine Stuhlentleerung hervorrief. — Die Lippen waren meist trocken, es bestand Durstgefühl. Die Zunge war wenig oder nicht belegt. Objektiv war am Leib meist nichts nachzuweisen. 1mal war der Leib aufgetrieben, 1mal bestand vorübergehende Druckempfindlichkeit in der Appendixgegend.

Der Puls war meist gar nicht oder nur wenig beschleunigt — entsprechend der mangelnden Temperatursteigerung. Bei 3 Kranken war der Puls über 100 am Abend des 10. Juni: bei Fall 2, bei Fall 6 (früher „herzkrank“), bei Fall 10 (früher 2mal „Gelenkrheumatismus“). 1mal war der Puls 48 (Fall 9). Wohl wegen der Schwäche der Leute sind 3 Kampferinjektionen verabfolgt worden. Das Verhalten des Pulses ist sehr wichtig. Es könnte einer sagen, das Erbrechen, die Uebelkeit, der Schwindel sind Folgen der 4– $4\frac{1}{2}$ -stündigen Arbeit in glühender Sonnenhitze, die Erkrankungsfälle wären also als Hitzschläge aufzufassen. Beim Hitzschlag ist jedoch das Zirkulationssystem ganz bedeutend in Mitleidenschaft gezogen.

Bei den meisten Kranken bestanden Symptome, die auf eine toxische Wirkung auf das Nervensystem hinwiesen: Schwindel, Kopfschmerz, Mattigkeit, Gliederschmerzen. Die Pupillen waren o. B., was gegen Botulismus spricht, welche Intoxikation überdies mindestens erst nach 6 Stunden, meist nach 24–36 Stunden Erscheinungen hervorruft. 1 Mann hat Krämpfe gehabt, epileptiforme, wahrscheinlicher ist hysterische (Zungenbiß fehlt).

7) Die kurze Dauer der Erkrankung, einige Stunden bis 5 Tage, spricht für eine geringe physische Schädigung. Das eingeführte Gift ist entweder rasch eliminiert worden, oder wenn es sich um ein biologisches Gift handelt, so ist es rasch unschädlich gemacht worden, oder die betreffenden Giftträger (Bakterien) sind wenig virulent gewesen.

8) Bakteriologische Untersuchung. Im Falle 12 konnte das Erbrochene bakteriologisch geprüft werden, allerdings mit negativem Erfolge. Das Erbrochene der anderen Kranken war abends 7 Uhr nicht mehr vorhanden. Von 7 Kranken konnten Stuhl und Urin vom nächsten Tage (11. Juni) bakteriologisch geprüft werden. Die Kranken 8–11 befanden sich im Krankenhaus. Ihren Stuhl und Urin habe ich erst bekommen, als sie wieder aus dem Krankenhaus entlassen worden waren (15. Juni) — kein Wunder, daß die bakteriologische Untersuchung 5 Tage nach der vermutlichen Infektion negativ ausgefallen ist. Die übrigen Erkrankten taten am 11. Juni schon wieder Dienst, waren für mich dann nicht mehr erreichbar. — Stuhl und Urin der Erkrankten wurden auf Endoplatten ausgestrichen, die verdächtigen blassen Kolonien mit Gärtner-Serum 1:100 und Paratyphusserum 1:100 geprüft, dann wurden Kontrollröhrchen angesetzt und die betreffenden Kulturen mit Gärtner- und Paratyphusserum auf ihr agglutinierendes Verhalten ausprobiert. Die Zugehörigkeit der betreffenden Bakterien zur Paratyphus-Gärtner-Gruppe wurde angenommen:

1. wenn es sich um bewegliche Stäbchen handelte,
2. wenn die Stäbchen gramnegativ sich färben ließen,
3. wenn in Bouillon gleichmäßige Trübung entstand,
4. wenn Gelatine nicht verflüssigt wurde,
5. wenn Milch nicht gerann,
6. wenn in Neutralrotagarstichkultur Fluoreszenz, Gasbildung und Verfärbung auftrat,

7. wenn Lackmusmolke (von Kahlbaum) die ersten 24 Stunden leicht getrübt und rotviolett verfärbt wurde und in ihr nach verschieden langer Zeit ein Umschlag in Blau eintrat.

8. Die Zugehörigkeit zur Gärtner-Gruppe wurde durch die Agglutination mit Gärtner- und Paratyphusserum festgestellt. Es ist oft nicht möglich gewesen, bis an die Serumtitergrenze heran die Bakterien zu agglutinieren — aber die großen Unregelmäßigkeiten der Gärtner-Bacillen in agglutinatorischer Hinsicht sind bekannt (Uhlenhuth, Hübner, Seligmann, Sobernheim). Ein Stamm, Kultur Ic von Fall 1, wurde sogar von Paratyphusserum höher agglutiniert als von Gärtner-Serum — es könnte sich um einen einzelnen Paratyphuskeim gehandelt haben, aber die gegenseitige agglutinatorische Beeinflussung der beiden Bakterienarten ist ja für sie, speziell aber für Bact. Gärtner, charakteristisch.

Die Untersuchungen haben in unseren Fällen ergeben:

Fall 1, 2, 4, 7 schieden am 11. Juni Gärtner-Bacillen durch den Stuhl aus,

Fall 1, 3, 4 solche Bacillen durch den Urin,

Fall 4 hatte Bacillen vom Typus Gärtner im Blut.

In den Blut-, Stuhl- und Urinproben vom 15. Juni der Kranken 8 u. 9 waren keine derartigen Bacillen nachzuweisen.

9) Serologische Ergebnisse. Da das Institut an jenen Tagen keinen einwandfreien Gärtner-Stamm besaß, wurde das Serum der Kranken mit ihren eigenen, inzwischen als Gärtner-Bacillen identifizierten Stämmen auf Agglutinationskraft geprüft, außerdem noch mit 2 Paratyphusstämmen. In 9 Fällen von 11 konnte agglutinatorische Kraft gegen Gärtner-Bacillen in den Serumproben vom 11. Juni und vom 15. Juni nachgewiesen werden.

Das Serum von Fall 1 agglutinierte den Stamm aus dem eigenen Stuhl bis $\frac{1}{100}$, Paratyphus-bacillen bis $\frac{1}{40}$

Fall 2 agglut. denselben Stamm bis $\frac{1}{40}$, Paratyphusbac. gar nicht

" 5 " die Kultur von Fall 2 bis auf $\frac{1}{100}$, Paratyphusbac. gar nicht

" 6 " " " " 1 bis auf $\frac{1}{320}$, " " "

" 7 " die eigene Kultur aus dem Stuhl bis $\frac{1}{80}$, Paratyphusbac. gar nicht

" 8 " die Kultur von Fall 1 bis $\frac{1}{80}$, Paratyphusbac. gar nicht

" 9 " " " " 2 " $\frac{1}{80}$ " " "

" 10 " " " " 4 " $\frac{1}{320}$ " " "

" 11 " " " " 4 " $\frac{1}{80}$ " " "

Am 22. Juni agglutinierten noch 5 Krankenserum die gewonnenen Kulturen.

Durch diese Art der Agglutination ist zugleich der Beweis geliefert, daß die im Darm und Urin der Kranken gefundenen Bakterien mit der biologischen Serumveränderung der Kranken ursächlich in Beziehung stehen.

Die Ermittlungen haben also ergeben, daß die geschilderte Massenerkrankung durch einen akuten Magenkatarrh infolge Infektion mit Gärtner-Bacillen erfolgt ist. Die Infektion ist mit Wahrscheinlichkeit durch das Mittagessen geschehen.

Die Giftigkeit des Mittagessens war schon von der Besatzung selbst noch durch den Verfütterungsversuch zufälligerweise festgestellt worden: die Ueberreste der Mahlzeiten pflegen an die beiden Schweinchen des Forts verfüttert und außerdem an belgische Familien zur Verfütterung an Vieh abgegeben zu werden. Die beiden kleinen Schweine des Forts und 2 kleine Schweine einer Belgierin haben gegen 5 Uhr nachm. das Bohnengericht gefressen und gegen 6 Uhr wieder herausgebrochen — am selben Tage haben sie nichts mehr zu sich genommen.

Das Mittagessen bestand aus Rindfleisch, weißen Bohnen und Kartoffeln. Die Ueberreste des Mahles und ihre Rohprodukte wurden einzeln untersucht, und zwar wurde ein Ausstrichpräparat gemacht und eine Kultur auf Endo. Es ergab sich folgendes:

1. Die Bohnen, getrocknet verwandt, waren 2 Tage gewässert worden und dann $5\frac{1}{2}$ Stunde gekocht. Sie enthielten weder roh noch in gekochtem Zustande pathogene Keime, waren fast steril.

2. Die Kartoffeln waren am Abend vor dem Genuß geschält, die ganze Nacht gewässert, dann 3 Stunden gekocht worden. Die rohen Kartoffeln enthielten den *Bac. mesentericus* (Kartoffelbacillus). Die gekochten Kartoffeln waren fast steril.

3. Das Fleisch stammte von einem Rindshinterviertel. Der Knochen war zufällig aufgehoben worden. Aus den daranhaftenden rohen Fleischresten wurden mittelgroße, gramnegative Stäbchen isoliert, die aber in der Kultur Gelatine verflüssigten, auch sonst nicht als Gärtner-Bacillen sich identifizieren ließen. Von dem gekochten Fleisch wurden 2 Würfel mit Kochsalzlösung 1 Stunde lang zu einem Brei zerschüttelt, der Brei auf 10 Endoplaten verimpft. Es wuchsen Kolonien, die sich als Kulturen der Paratyphus-Gärtner-Gruppe erwiesen (Differenzierung s. oben). Die Agglutinationsprobe ließ im Stich, da die Bakterien sehr rasch von der NaCl-Lösung agglutiniert wurden. In Leitungs- und in destilliertem Wasser zeigten sie sich als lebhaft bewegliche Stäbchen. Auch die Tierpassage änderte nichts an dem Verhalten der Bakterien. Merkwürdigerweise teilten die Bakterien diese Eigenschaft der Agglutination durch NaCl-Lösung mit einer Reihe von Gärtner-Stämmen des hiesigen Bakteriologischen Universitätsinstituts. Die Identität unserer Bacillen mit Gärtner-Bacillen wurde mit Hilfe des Komplementbindungsversuchs (nach Bordetscher Methodik) festgestellt:

Eine 24-stündige Agarkultur wurde mit 5 ccm steriler NaCl-Lösung durch Schütteln abgeschwemmt und emulgiert. Dann wurde durch einen Vorversuch ermittelt, ob die Bakterienemulsion (das Antigen) die Hämolyse von selbst hemmte und in welcher Verdünnung des Antigens die Hämolyse erfolgte (= Titration des Antigens). Es ergab sich, daß für den Versuch eine Verdünnung von $\frac{1}{40}$ genommen werden mußte. Der Hauptversuch wurde mit steigender Serummenge (Gärtner-Serum, Verdünnung $\frac{1}{10}$) 0,5—0,75—1,0 vorgenommen bei 0,5 Antigen ($\frac{1}{40}$), 0,5 Meerschweinchenkomplement ($\frac{1}{10}$), 1,0 hämolytischem System [0,5 Hammelblutkörperchen ($\frac{1}{20}$) + 0,5 hämolytischer Ambozeptor ($\frac{1}{800}$), vor-

her austitriert]. Zur Kontrolle wurde noch ein Röhrchen mit 1,0 Normalserum ($\frac{1}{10}$) an Stelle von Gärtner-Serum (spezifische Kontrolle) und 1 Röhrchen mit 0,75 Gärtner-Serum ($\frac{1}{10}$) ohne Antigen (Serumkontrolle) angesetzt — die Antigenkontrolle ist ja bereits durch den Vorversuch erledigt. Antigen-Serum-Komplement wurden $1\frac{1}{2}$ Std. im Brutschrank gelassen, dann das hämolytische System zugefügt, dann wieder $\frac{3}{4}$ Std. in den Brutschrank — dann wurde das Resultat abgelesen: Hemmung der Hämolyse in den Röhrchen mit Antigen-Gärtner-Serum-Komplement, Hämolyse in den beiden Kontrollröhrchen. Ein gleicher Versuch wurde nebenher mit einem sicheren Gärtner-Stamm gemacht; das Resultat stimmte vollkommen mit dem Versuch mit dem unbekannten Antigen überein. Es wurde darauf angenommen, daß die aus dem gekochten Fleisch gezüchteten Bakterien Bacillen der Gärtner-Gruppe seien.

4. Aus der Tunke des Mittagessens wurden Bakterien gezüchtet, welche denen des gekochten Fleisches in jeder Hinsicht glichen. Ihre Identität mit Gärtner-Bacillen mußte gleichfalls mit Hilfe des Komplementbindungsversuchs festgestellt werden (die Bakterienemulsion mußte hier aber auf $\frac{1}{70}$ verdünnt werden).

Von dem verdünnten Fleischsaft aus dem gekochten Fleische wurden $\frac{1}{2}$ ccm einer weißen Maus, 1 ccm einem Meerschweinchen, 1 ccm einer weißen Ratte subkutan injiziert. Maus und Meerschweinchen haben die Injektion anstandslos vertragen. Die Ratte erkrankte sofort, fraß nicht mehr, schlief fortwährend, zeigte äußerst beschleunigte Atmung, war scheinbar dem Tode sehr nahe, bis sie sich nach 14 Tagen allmählich erholte. Die in dem Fleischsaft enthaltenen Gärtner-Bacillen waren also nur für die Ratte pathogen. Das ist um so auffälliger, da übereinstimmend in der Literatur berichtet wird, daß alle Stämme der Paratyphus-Gärtner-Gruppe viel mehr für die Maus, dann für das Meerschweinchen, viel weniger aber für Ratten pathogen sind.

Während die Kartoffeln vor dem Kochen reichlichst Bacillen (*Mesentericus*) enthielten und nach dem Kochen fast steril waren, so hat sich also gezeigt, daß gerade das gekochte Fleisch infiziert war. Für die Infektionszeit für das Fleisch bestehen zwei Möglichkeiten:

1. Das Fleisch ist infiziert worden zwischen dem Kochen und dem Verteilen des Gerichtes — diese Annahme ist abzuweisen; denn dann mußte das unbedingt durch die Hände der Köche geschehen sein, falls sie Bacillenträger wären. Solche Zufälle müßten aber dann öfter vorgekommen sein. Außerdem habe ich das Küchenpersonal auf Gärtner- und Paratyphusbacillen mit negativem Erfolge untersucht — auch kennt man bisher für Gärtner-Bacillen keine menschlichen chronischen Dauerausscheider.

2. Das Fleisch ist vor dem Kochen infiziert worden. Ich habe ermittelt, daß das Fleisch $2\frac{1}{2}$ Stunden gekocht hat.

Die Küchentechnik bei unserer Besatzung ist aber folgende: Das Fleisch (hier Rindshinterviertel von 34 kg) wird in Fleischblöcke von ca. 3 kg geschnitten, also in Blöcke von ca. 30—35 cm Länge, ca. 20 cm Dicke, ca. 20 cm Breite, und in einem Kessel $2\frac{1}{2}$ —3 Stunden gekocht. Dann werden die Fleischblöcke auf den Tisch gelegt und in Würfel zerschnitten, die Fleischwürfel werden dann dem Gemüse zugefügt, ohne daß das Ganze dann noch einmal zum Kochen gebracht wird. In solchen

großen Fleischblöcken wird aber trotz mehrstündigen Kochens keine Temperatur erreicht, bei welcher die Bacillen, speziell Bacillen der Paratyphus-Gärtner-Gruppe, zugrunde gehen müssen.

Nach den Untersuchungen von Uhlenhuth und Hübner (17) können im Wurstbrei die Bacillen der Paratyphus-Gärtner-Gruppe 2 Stunden langes Kochen aushalten. Nach Eckersdorff¹⁾ genügt die küchenmäßige Zubereitung des Fleisches der Schlachttiere in den seltensten Fällen, um das Fleisch keimfrei zu machen. Im Innern der großen Fleischstücke wird selten eine genügend hohe Temperatur erreicht. Eckersdorff fand im Innern eines 15 cm langen, 10 cm breiten und 10 cm hohen Seehechtstückes nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Kochen in geschlossenem Kochtopf an der Peripherie 100°, im Innern 42°. — In Bouillonkulturen und Milch sterben Paratyphus-Gärtner-Bacillen bei 60° erst nach 1 Stunde ab [Kolle¹⁾]. — Rimpau¹⁾ kochte Gärtner-Bacillen-haltigen Fleischsaft $\frac{1}{2}$ Stunde im Kochtopf, wobei sich ein Bodensatz von grobflockigem koagulierten Eiweiß bildete, in dem sich die Erreger durch Anreicherung noch nachweisen ließen.

Es ist also experimentell genügend festgestellt, daß die bei unserer Besatzung geübte Technik nicht genügt, um Bacillen im Innern von solchen Fleischblöcken zu töten. Daß die Bacillen in der Tunke zu finden waren, nimmt nicht wunder, da die Tunke erst 9 Stunden nach der Mahlzeit untersucht wurde. In sie sind die Bacillen während des heißen Nachmittags hineingewachsen und haben sich in ihr als in einem nahezu idealen Nährboden vermehrt. — Die angeführten Beispiele aus der Literatur erklären auch, daß der kostende Truppenarzt bestimmt nichts von der Bacillenwirkung gemerkt haben kann, denn es wurde angegeben, daß zur Kostprobe ein Scheibchen von der Oberfläche eines noch unzerschnittenen Fleischblockes abgeschnitten wurde — an der Oberfläche wird aber beim Kochen immer eine Temperatur von 100° und dadurch Keimabtötung erreicht. Diese Beispiele erklären auch, warum nicht alle Esser erkrankt sind, da nur noch ein Teil des Fleisches nach dem Kochen infiziert war, jedesmal die Fleischwürfel, die aus dem Innern der Fleischblöcke stammten — wer solch einen infizierten Fleischwürfel bekam, konnte erkranken.

Wie sind die Bacillen nun in das Fleisch gelangt? Darüber folgende Ermittlungen: Das Fleisch wird am Tage vor dem Verbräuche (also hier am 9. Juni) von einem anscheinend intelligenten und gewissenhaften Unteroffizier einer Nachbarbesatzung für seine und die Besatzung mit den Krankheitsfällen zusammen bei einem deutschen Fleischer ausgesucht, auf den Zulassungstempel untersucht und gekauft. Dieser Fleischer hat das betreffende Tier am 7. Juni von einem einheimischen Fleischer und Viehhändler kaufen und schlachten lassen. Die Fleischschau (jetzt nach deutschem Muster) hat nichts von dem betreffenden Tiere verworfen, alles für den Genuß unbeschränkt mit dem Stempel zugelassen. Das Fleisch hat in einwandfreien Kühlräumen und Kühlschränken beim Fleischer gehangen, wie ich mich überzeugt habe. Am 9. Juni sind 34 kg für unsere Mannschaften und 12 kg für die genannte Nachbarbesatzung gekauft worden; beide Mengen machten ein ganzes Rindshinterviertel aus, so daß tatsächlich am 10. Juni die beiden Be-

1) Zit. nach Uhlenhuth und Hübner (17).

satzungen dasselbe Fleisch gegessen haben. Von der Nachbarbesatzung ist aber nicht ein einziger Mann erkrankt. Also muß das Fleisch im Bereich der Wohnung unserer Besatzung infiziert worden sein, nachdem es vom genannten Unteroffizier abgeliefert worden ist.

Das Fleisch ist im Vorratsraum aufgehängt worden, welcher von der Küche durch eine Tür getrennt ist. Der Raum ist nur ein wenig kühler als die Küche, was verständlich ist, da tagsüber die Leute immer aus und ein gehen. Am 9. und 10. Juni sollen in der Küche selbst während der Mittagszeit 42° geherrscht haben — rechnet man für den Vorratsraum 10° weniger, so sind das immer noch 32° — also eine geeignete Temperatur für das Wachstum von Bakterien. In dieser Temperatur hat das Fleisch den ganzen Nachmittag des 9. bis zum Vormittag des 10. Juni zugebracht. Es hing dort an einem Haken, der freischwiegend an der Decke befestigt war, ca. 30–40 cm von einer Art $1\frac{1}{2}$ m hohen Bank entfernt. Hier ist wahrscheinlich das Fleisch infiziert worden.

Es war auffällig, daß die gefundenen Gärtner-Bacillen sich nur für Ratten pathogen erwiesen. Diese Eigenschaft zeigt nur die Gruppe der Rattenschädlinge, die nach Ansicht vieler Autoren absolut identisch sind mit den Gärtner-Bacillen und sich von ihnen nur durch die Rattenpathogenität unterscheiden (s. weiter unten). Es lag deshalb der Gedanke nahe, daß das Fleisch in jener Vorratskammer von Ratten infiziert worden ist. Ich habe tatsächlich am 16. Juni abends, als ich mit dem Küchenunteroffizier in der Küche Erörterungen anstellte, eine Ratte von der Tür der Vorratskammer quer durch die Küche nach der anderen Ecke zum Ausguß laufen sehen, und man berichtete mir, daß man am 15. Juni dort in der Ecke, wo der Ausguß sich befindet, eine Ratte getötet habe. Diese tote Ratte habe ich mir bringen lassen. Sie enthielt in der Leber 1 *Cysticercus* des Katzenbandwurmes *Taenia crassicolis* (ein Zeichen, daß im betreffenden Gebäudekomplex den Katzen der Aufenthalt von Ratten bekannt ist), im Darm eine Bacillenart, welche ich durch Kultur (cf. p. 144) und durch Agglutination bis 1:1000 als Gärtner-Bacillus identifizieren konnte¹⁾. Durch Befragen erfuhr ich, daß man öfter schon tote Ratten unter Stroh lagernd gefunden hatte — möglich, daß diese einer solchen Gärtner- oder Rattepeizootie erlegen sind. Außerdem hatte ich schon vorher vom betreffenden Truppenarzt erfahren, daß die Besatzung sich bei ihm über die Rattenplage auf der Latrine beklagt hatte. Die Latrine hängt mit dem Abwässerkanalsystem zusammen, welches frei auf einer Wiese mündet. Von dieser Mündung aus gelangen die Ratten in die Latrine, von dort aus durch die Abwässerkanäle in den Ausguß der Küche. Der Ausguß der Küche ist ein Steinbecken, durch ein weites Gitter gedeckt, darunter scheint noch ein enges zu sein. Die Ratten haben aber zwischen Wand und Steinbecken einen Kanal nach dem Abflußrohre genagt, durch den sie bequem aus und ein schlüpfen können. Von dort aus gelangen sie durch die Küche in die Vorratskammer, können sich dort zwischen den Säcken verbergen, klettern die bezeichnete hohe Bank in die Höhe, um von da durch einen kleinen Sprung

1) Diese Bacillen wurden vom Serum von Fall 8 und Fall 13 vom 12. Juni bis $\frac{1}{40}$ agglutiniert, von Paratyphusserum gar nicht.

auf das aufgehängte Fleisch zu gelangen. Sie nagen das Fleisch an und infizieren es. In der geeigneten Temperatur des Raumes entwickeln sich in dem gerade infizierten Stücke die Bakterien — es braucht natürlich nicht das ganze Rindshinterviertel infiziert worden zu sein, es ist ja auch nur ein kleiner Teil der Esser erkrankt.

Seit jenem Tage wird das Fleisch in einem besonderen, gut zementierten Kühlraum mit Gittern vor dem Fenster, ohne Wasserrinne, aufbewahrt, vor Ratten geschützt.

Den letzten Teil zusammengefaßt, haben wir also gefunden: Von dem fraglichen Mittagessen erwies sich das gekochte Fleisch als infiziert mit einer Gärtner-Bacillenart. Das Fleisch ist erst in dem Besatzungsgebäude infiziert worden. Als Vermittler der Infektion sind wahrscheinlich Ratten anzusehen, welche die bei den Erkrankten und in dem Fleisch gefundenen Bacillen beherbergten (Bacillenträger). Das betreffende Gebäude ist mit Ratten verseucht; diese gelangen leicht von außen über das Kanalsystem in die Küche. Das Fleisch ist außerdem in einem zu warmen Raume aufbewahrt worden.

Der Erreger der Infektion, die genannte Gärtner-Bacillenart, bedurfte noch genauerer Untersuchung. Wie schon bemerkt, war aufgefallen, daß die Ratte für die Bakterien des Fleischsaftes so empfänglich war, daß sie 14 Tage schwer krank war und nahe daran war, zu sterben, während die Maus und das Meerschweinchen überhaupt keine Krankheitserscheinungen zeigten. Nach Uhlenhuth und Hübner (17) haben Gärtner- und Paratyphusbacillen dieselbe Pathogenität: hochpathogen für Mäuse, dann für Meerschweinchen, viel weniger pathogen für Ratten. Unsere Gärtner-Bacillenart zeigt eine Pathogenität, wie sie Uhlenhuth und Hübner für die Rattenschädlinge anführen: Ratte > Maus > Meerschweinchen. Es fragt sich, ob unsere Bacillenart einfach Gärtner-Bacillen sind oder zur Gruppe der Rattenschädlinge gehören. Uhlenhuth und Hübner (17) äußern sich über das Vorkommen von Gärtner-Bacillen bei den verschiedenen Tierarten, wie folgt: „.... bei Ratten und Mäusen, bei denen Gärtner-Bakterien infektiöse Enteritiden, oft in Gestalt von Epizootien, bewirkten. Im Laufe der letzten Jahre sind mehrfach aus toten Mäusen und Ratten Bakterien gezüchtet worden, welche alle Merkmale des Gärtner-Bacillus aufweisen und welche eine hohe Pathogenität für Ratten besitzen. Man bezeichnet diese Mikroorganismen ganz allgemein als Rattenschädlinge.“ Ueber diese Rattenschädlinge haben Uhlenhuth und Hübner an gleicher Stelle die ganze Literatur bis 1913 zusammengefaßt; seitdem ist von keiner Seite eine widersprechende Publikation erfolgt — soweit mir die Literatur zugänglich war. Bei der Durchsicht der Literatur sind wir zu demselben Resultat gekommen wie Uhlenhuth und Hübner und können uns daher der Kürze halber an den Bericht der beiden Autoren halten:

Von den Rattenschädlingen sind bis jetzt folgende Stämme bekannt: 1) der *Bacillus Danysz* (1900), 2) der *Bacillus Issatschenko* (1901), 3) der *Ratin-Bacillus Neumann* (1905), 4) der *Bacillus Trautmann* (1906), 5) der *Bacillus Dunbar* (1904), 6) der *Bacillus des Liverpoolvirus*.

In dem morphologischen, kulturellen, chemisch-biologischen Verhalten stimmen alle Rattenstämme unter sich und mit dem Gärtner-Bacillus überein. Auch durch Agglutination und Komplementbindung lassen sie

sich nicht trennen [Altmann (1) und Steffenhagen (15), Hurler (s. d. weiter unten)]. Sobernheim und Seligmann wollten die Gruppen durch die Komplementbindungsreaktionen trennen, die Bestätigung des Befundes steht noch aus, kann durch Hurler (5) als endgültig widerlegt betrachtet werden. Die Pathogenität ist schon oben ausreichend erwähnt worden. Betont wird, daß nicht alle Ratten gleichmäßig empfänglich sind, zumal ältere Ratten leichter die Infektion überstehen. Große Tiere: Affen, Schafe, Hunde, Pferde können vorübergehend erkranken, junge Kälber und Hühner sogar sterben. In der „Ratin“-Gebrauchsanweisung [zit. nach Mühlens, Dahm und Fürst (12)] heißt es, daß man neugeborene Kälber und Saugferkel vor der Aufnahme von „Ratin“ bewahren soll. Für Menschen sind die Rattenschädlinge (die bekanntlich zur Rattenvertilgung verwendet werden) im allgemeinen nicht pathogen. Gaffky berichtet über die Erkrankung eines mit der Herstellung von Danysz und Virus beschäftigten Fabrikangestellten an akutem Magen- und Darmkatarrh. 1909 berichten Handson, Williams und Klein über eine Massenerkrankung an Gastroenteritis infolge Infektion mit Liverpoolvirus.

Nach Uhlenhuth und Hübner gelingt die Differenzierung der einzelnen Vertreter der Gärtner-Gruppe auch nicht durch die Bakteriolyse und aktive Immunisierung. Aber sie betonen, daß aus allen diesen Tatsachen, die möglicherweise nur ein Ausdruck der Unzulänglichkeit unserer Untersuchungsmethoden sind, nicht ohne weiteres auf eine Identität der Glieder der Gruppe geschlossen werden darf.

Es ist also leichter zu beweisen, daß ein Rattenschädling zur großen Gruppe der Gärtner-Bacillen gehört, als daß eine Gärtner-Bacillenart zur Unterabteilung der Rattenschädlinge gehört. Außer der Pathogenität gibt es aber zur Zeit kein Mittel, einen Bacillus als Rattenschädling zu differenzieren.

Mereshkowsky (9) macht sich allerdings die Sache sehr leicht bei der Prüfung des sogenannten „Virus sanitar“: er stellt die kulturelle Identität des Bacillus des Virus sanitar mit dem Bacillus Danysz fest (also kulturell „Gärtner“) und sagt dann ohne Beweise frei heraus, daß das Virus sanitar eine verunreinigte Danysz-Kultur sei.

Wir haben die Pathogenität unserer Kultur noch weiter geprüft. Am 25. Juni erhielt eine Ratte eine ganze Agarkultur in Kochsalzlösung mit Brot zu fressen. Die Ratte war 3—4 Tage schwer krank, zeigte dieselben Symptome, welche Mereshkowsky (6) als Wirkung der Danysz-Bacillen beschreibt: „sie schien matt zu sein, saß mit halbgeschlossenen Augen da, mit zerzaustem Haar, reagierte schwach auf äußere Reize“, hatte eine sehr lebhaft Respiration — allmählich erholte sie sich wieder. Noch einmal wurde das Experiment am 13. Juli an der sensibilisierten Ratte gemacht, sie erhielt eine Agarkultur mit Brot vermischt (Fleisch wurde stets vermieden), die Ratte wurde wieder schwer krank, die überstandene Infektion hatte sie noch nicht vor der Wirkung der Bakterien geschützt. Am Meerschweinchen zeigte sich folgendes: Am 28. Juni wurde eine ganze Agarkulturabschwemmung mit Brot ohne die geringste sichtbare Störung vertragen. Am 7. Juli wurde einem Meerschweinchen 1,0 ccm einer alten Bouillonkultur der fraglichen Bacillen subkutan injiziert, um es zu sensibilisieren — es war 2 Tage etwas krank, hatte trübe Augen, war dann wieder wohlauf; am 13. Juli erhielt dasselbe Meerschweinchen eine ganze Agarkultur mit

Brot vermischt zu fressen — das wurde ohne die geringste Störung vertragen. Ebenso wenig zeigte die Kultur Wirkung auf weiße Mäuse bei Verfütterung: eine halbe Agarkultur wurde glatt vertragen. Allerdings fiel eine Maus der subkutanen Injektion von 0,5 ccm einer alten Bouillonkultur zum Opfer; das ist allerdings sehr viel Material für ein so kleines Tier. Mangels Versuchsmaterials konnte an der Maus die Wirkung der Bouillonkultur damals nicht weiter studiert werden.

Es hat sich also gezeigt, daß die Bakterien immer wieder viel mehr pathogen waren für die Ratte als für Maus und Meerschweinchen — letztere beiden Tierarten waren durch Verfütterung gar nicht zu infizieren. Die sensibilisierte Ratte starb nach einer Herzpunktion, welche zwecks Serumgewinnung gemacht wurde. Aus ihrem Darm wurden Bacillen gezüchtet, welche mit den beschriebenen Kulturen völlig identisch waren, wenn sie auch nicht so leicht durch NaCl agglutiniert wurden wie der aus dem Fleisch gezüchtete Stamm. (Diese leichte Agglutinabilität ist wohl eine Eigenschaft, die überhaupt der Gärtner-Gruppe zukommt, denn Aumann (2) beschreibt auch einen Gärtner-Stamm, der 8 Tage lang unbewegliche Stäbchen zeigte, und Hurler (5) hebt für alle Rattenschädlinge das Phänomen der raschen Kuppenbildung in Bouillon hervor.) Die aus der getöteten sensibilisierten Ratte gezüchteten Bacillen wurden vom eigenen Serum bis $\frac{1}{80}++$, bis $\frac{1}{160} \pm$ agglutiniert. Dieses Rattenserum agglutinierte den menschlichen Stamm nur noch bis $\frac{1}{20}++$, während echte Gärtner-Bacillen nicht agglutiniert wurden. Hurler (5), welcher eine große Arbeit der Identifizierung der Rattenschädlinge 1912 gewidmet hat, kommt zu dem Schluß, daß Gärtner-Serum zwar Gärtner-Bacillen und Rattenschädlinge agglutiniert, aber das Rattenserum nur Rattenschädlinge (am besten den eigenen Stamm) agglutiniert, aber keine Gärtner-Bacillen. Wenn das stimmt (Hurlers Versuche sind noch nicht wiederholt worden), so hätten wir allen Grund, unsere Stämme zu den Rattenschädlingen zu rechnen. Aber der Ausfall der Agglutination durch das Rattenserum kann Zufall sein, da die Agglutination bei den Gärtner-Stämmen bekanntlich immer etwas dem Zufall unterworfen ist — hat man doch erreicht, daß ein Gärtner-Serum den eigenen Stamm nach dessen Umzüchtung nicht mehr agglutinierte. Deshalb scheint uns die beobachtete Pathogenität wichtiger als der zufällige Ausfall der Agglutination zu sein. — Von Belang erscheint auch die Tatsache, daß die 4 Ferkel, welche das Mittagsbrot gefressen hatten, erkrankten (cf. p. 145).

Die geringe Pathogenität der Rattenschädlinge für Menschen erklärt den leichten Verlauf unserer Massenerkrankung, obgleich die Virulenz der Bacillen sicher gesteigert war [durch die Umzüchtung von Ratte auf Fleisch, vom Fleisch auf den Menschen¹⁾]. Sie erklärt auch, daß besonders die Leute erkrankten, deren Magen- und Darmschleimhaut vielleicht doch durch die Arbeit am ganzen Vormittag in der Sonnenglut hyperämisch oder gar katarrhalisch verändert war (= regelmäßiger Befund bei Wärmestauung) — mag man nun annehmen, daß der wasserbedürftige Körper die bakterien- und endotoxinhaltige Flüssigkeit aufgesaugt hat und durch die Giftwirkung erkrankt ist (Theorien von

1) Im Sinne der Erklärung von Uhlenhuth und Hübner, wie tierpathogene Stämme menschenpathogen werden können.

Trautmann, Schottmüller, Hübner), oder daß die Bakterien bei ihrer Berührung mit der hyperämischen Schleimhaut durch Bakteriolyse zugrunde gegangen sind und dann erst ihre Giftwirkung durch frei gewordene Endotoxine in statu nascendi ausübten [Hübschmann (4)].

Von Bedeutung erscheint mir noch die Aussage der Besatzung, daß man öfter tote Ratten unter Stroh liegend gefunden habe (cf. p. 148) — möglicherweise hat irgendeinmal eine Epizootie durch Rattenschädlinge unter den Ratten des Gebäudekomplexes geherrscht.

Ich glaube kaum, daß irgend etwas dagegen spricht, die von uns isolierten Bakterien zu den Rattenschädlingen zu rechnen.

Wir können deshalb unsere Ausführungen dahin zusammenfassen, daß die geschilderten Massenerkrankungen in Form einer toxischen Gastritis und Gastroenteritis auf eine Infektion mit einer durch Fleischpassage menschenpathogen gewordenen Rattenschädlingsgruppe zurückzuführen sind. (G. C.)

Literatur.

- 1) Altmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910.
- 2) Aumann, Med. Klin. 1911. No. 30.
- 3) Bahr, Raebiger u. Grosso, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910.
- 4) Hübschmann, Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. Bd. 56. 1913.
- 5) Hurler, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912.
- 6) Mereshkowsky, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62, 1912. p. 3.
- 7) — ebenda. Bd. 62. 1912. p. 64.
- 8) — ebenda. Bd. 62. 1912. p. 69.
- 9) — ebenda. Bd. 62. 1912. p. 72.
- 10) — ebenda. Bd. 65. 1912. p. 393.
- 11) — ebenda. Bd. 65. 1912. p. 482.
- 12) — ebenda. Bd. 65. 1912. p. 488.
- 13) Mühlens, Dahm u. Fürst, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1909.
- 14) Schern, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62. 1912.
- 15) Steffenhagen, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. Heft 3.
- 16) Trautmann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909; sonst zit. nach 4).
- 17) Uhlenhuth u. Hübner, Handb. d. path. Mikroorg. von Kolle u. Wassermann. Bd. 3. 1913.
- 18) Weber u. Haendel, Berlin. klin. Wochenschr. 1912. No. 47.
- 19) Xylander, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909. p. 455.

Nachdruck verboten.

Weitere Beobachtungen über die Läuseplage.

Von Prof. Dr. Albrecht Hase, Jena.

Ein Jahr Kriegsführung liegt hinter uns, und fast ebenso lange wird ein erbitterter Kampf gegen die Läuseplage geführt. Durch die moderne Kriegsführung fanden die Läuse, besonders die Kleiderläuse, außerordentlich günstige Lebensbedingungen; ihre Vermehrung und Verbreitung nahm einen höchst bedrohlichen Charakter an. Diese Tatsachen sind jetzt bekannt, und wir wissen heute über die Menschenläuse doch bedeutend besser Bescheid als ein Jahr früher. Alle Lebesseigentümlichkeiten sind uns noch längst nicht bekannt, und es ist uns auch noch nicht geglückt, dieser Parasiten völlig Herr zu werden. Welche gefährliche und ausschlaggebende Rolle die Kleiderläuse bei der Fleckfieberverbreitung spielen, ist jetzt allen geläufig. In dem letzten Jahre ist so viel über Läuse in wissenschaftlichen und Tageszeitungen geschrieben worden, daß es schon eine beträchtliche Arbeit ist, alles Vorhandene kritisch zu sichten. Ein letztes Wort über die Läuse und die Läuseplage zu sprechen, ist noch nicht an der Zeit, und ich möchte auch hier nicht auf alle vorhandenen Arbeiten kritisch eingehen, sondern nur eine Reihe von Beobachtungen und Erfahrungen mitteilen, welche ich an der Ostfront in den Monaten Juni und Juli sammelte. Eigens zum Studium der Läuseplage hatte mich das Kriegsministerium, Medizinalabteilung, dorthin entsandt. Für das außerordentlich liebenswürdige Entgegenkommen möchte ich den Herren der Medizinalabteilung auch hier meinen besten Dank aussprechen.

Meine Beobachtungen und Untersuchungen wurden sowohl in Etappenorten wie auch in den Schützengräben und Unterständen angestellt. Nur so ist es möglich, einen richtigen Begriff von dem „Milieu“ zu erhalten, in dem die Verlausung zustande kommt resp. heimisch ist. Besonders durch Untersuchungen an den Mannschaften, durch richtig gestellte Umfragen aller Art wird doch vieles aufgeklärt. Ein Soldat, der etwa seit 10 Monaten im Felde steht und mit Läusen zu tun hatte, kann auch „mitreden“ in diesen Dingen. Von vielen, besonders den höher gebildeten Leuten, wurden mir sogar recht gute Beobachtungen mitgeteilt. Ueber die Zeit des Genierens in diesen Dingen sind die alten Feldsoldaten gottlob längst hinaus; höchstens daß einmal ein Ersatzmann nicht recht mit der Sprache heraus will und einen Befall durch Läuse in Abrede stellt aus falschem Schamgefühl heraus. Was ich hier mitteilen möchte, sind eine Reihe von Punkten, welche im letzten Grunde bei der Bekämpfung im Auge behalten werden müssen.

1. Ueber die „Gewöhnung an Läusestiche“.

Bekanntlich wird eine ganze Reihe von Menschen, welche in Gegenden mit Mückenplage leben, unempfindlich gegen Mückenstiche, sei es, daß der Stich selbst nicht mehr schmerzhaft ist, oder auch daß eine Quaddel-(Pustel-)Bildung unterbleibt. Ferner werden gewisse Personen von Flöhen und Wanzen (auch von Mücken) gar nicht angefallen. Den Grund hier-

für wissen wir noch nicht. Im Volksmunde heißt es, „es liegt am Blute“. Sicher ist ferner die große individuelle Verschiedenheit dieses Unempfindlichseins und Unempfindlichwerdens. Bei nahezu an 1000 Personen habe ich nun betreffs der Kleiderlausstiche genaue Umfragen gehalten, und eine ganz analoge Erscheinung stellte sich heraus. Wir können verschiedene Gruppen von Menschen unterscheiden.

Gruppe A umfaßt Personen, die seit Monaten zwischen Verlausten leben und selbst nie von Läusen angefallen werden. Prophylaktische Mittel spielen keine Rolle, d. h. die Betreffenden haben solche niemals angewandt.

Gruppe B umfaßt Personen, die von Läusen stark befallen wurden. Sie haben (vor Monaten schon) jeden Läusestich gespürt und sind auch heute noch voll stichempfindlich.

Gruppe C umfaßt Personen, die früher (im Herbst und im Winter) von Läusen geplagt wurden, aber jetzt nicht mehr stichempfindlich sind. Es ist also eine Immunisierung eingetreten.

Gruppe D umfaßt Personen, die vor Monaten von Läusen befallen wurden, aber schon damals den Stich nicht spürten und auch heute noch mit Läusen behaftet waren, ohne etwas zu merken.

Die 4 Gruppen A—D sind nicht gleichwertig. Gruppe A wird gar nicht befallen. Gruppen B, C, D werden befallen. Ein Teil davon (Gruppe B) ist stichempfindlich geblieben; ein zweiter Teil wird stichunempfindlich (Gruppe C); der dritte Teil war überhaupt stichunempfindlich und ist es heute noch. Merkwürdigerweise habe ich niemand gefunden, der erst stichunempfindlich war und im Laufe der Zeit durch den starken Befall stichempfindlich wurde, doch soll damit nicht gesagt sein, daß es solche Personen nicht gibt. Besonders gefährlich für ihre Umgebung sind die Personen der Gruppen C und D, da bei diesen ein Verlangen nach Entlausung nicht vorhanden ist, denn sie leiden ja nicht darunter. (Es sei denn, daß persönliches Ekelgefühl den Wunsch nach Läusefreiheit erweckt.)

Diese Erscheinungen decken sich also mit denen, die wir von dem Immunein resp. Immunwerden, gegenüber den Stichen anderer blut-saugender Parasiten kennen; sie decken sich auch mit den Erfahrungen der Bienenzüchter. Unter den Imkern gibt es gleichfalls solche, die von vornherein immun sind, und solche, die es werden bzw. nie werden. Bemerkenswert ist ferner, daß dieses Unempfindlichwerden gegen Läusestiche so rasch (im Verlauf von einigen Monaten) eintritt. Der Grund hierfür ist wohl in dem oft massenhaften Befall der einzelnen Personen zu suchen. Ob das jeweilige Lebensalter eine Rolle spielt, konnte ich bis jetzt nicht feststellen.

Diese „Gewöhnung an Läusestiche“ macht es uns auch erklärlich, warum ein großer Teil der Zivilbevölkerung in Russisch-Polen so indolent gegen die Verlausung ist. Da sie alle von Kindheit an damit behaftet sind, so ist vielfach eine Unempfindlichkeit gegen den Läusestich eingetreten, und für sie fällt, bei dem hinzukommenden mangelhaften Reinlichkeitssinn, das Bedürfnis nach Entlausung weg.

Im Zusammenhang damit suchte ich festzustellen, ob hier gewisse Beziehungen zum Befall bzw. Nichtbefall von seiten anderer Parasiten beständen. Irgendwelches Ergebnis kam nicht zutage. Z. B.: ein Mann, der von Läusen nicht angegriffen wurde, hat unter Flohstichen zu leiden; ein

zweiter spürte Floh- und Läusestiche; ein dritter spürte Läusestiche, an ihn ging kein Floh, und so fort. Die 4 häufigsten blutsaugenden Außenparasiten habe ich in Betracht gezogen bei den Umfragen: Flöhe, Wanzen, Mücken, Läuse, aber ohne jedes eindeutige Resultat.

2. Die Frage des persönlichen Läuseschutzes und über die Wirkung und den Wert der sogenannten (prophylaktischen) Abwehrmittel.

Im Spätherbst und Frühwinter vorigen Jahres wurden die Rufe nach Läuseabwehrmitteln und nach Maßnahmen zum persönlichen Läuseschutz immer dringender. In die Tagespresse und auch in die wissenschaftlichen Zeitungen kamen Artikel, welche sich mit diesen Fragen befaßten. Vor allem wurden ätherische Oele in erster Linie als Abwehrmittel empfohlen, dann wurden auch Riechstoffe im weiteren Sinne als dafür geeignet erachtet. Findige Händler fingen einen schwunghaften Handel mit „Läusemitteln“ an und priesen ihre Erzeugnisse als „unfehlbar“. Zum Zeugnis wurden Feldpostbriefe abgedruckt usw. Aber auch die ernste chemische Industrie verfiel auf diese Dinge und stellte im Großbetriebe Tausende von Kilogrammen solcher Abwehrmittel her. Bei all diesen Substanzen handelt es sich um Stoffe, die entweder alle Läuse „sofort“ töten sollten („der Erfolg war verblüffend“ und ähnliche schöne Redensarten wurden zur Anpreisung benutzt), oder es handelte sich um solche, die die Läuse dauernd fernhalten sollten vom Körper desjenigen, der sich damit einreibe oder die Kleider damit behandle. Der Sinn, welcher dieser Fabrikation zugrunde lag, war der: Die betreffenden Mittel riechen uns mehr oder minder unangenehm, folglich riechen sie auch der Laus unangenehm, und sie kommt nicht dahin, wo diese Substanzen verteilt sind. Ein anderer Teil der „Läusemittel“ sollte, wie schon gesagt, alle (auch die Brut) sofort töten. Ein guter Teil dieser Mittel (siehe Tabelle) ist direkter Schwindel und nur auf den Handelsgewinn hinzielend hergestellt und vertrieben worden. Man beachte, wie viele von den Anpreisungen den Vermerk tragen: „lohnender Handverkauf“, „hoher Verdienst“ usf. Mittel habe ich aufgegriffen, die meines Erachtens weiter nichts waren als verdünntes, gefärbtes Formalin (dafür kostet 1 Fl. zu 100 ccm 1,50 M.) oder Petroleum mit Nelkenöl (25 ccm kosten 1,00 M.) usw. Schon die wilde Namengebung erregt Bedenken.

Jetzt können wir doch ein besseres Urteil abgeben und sagen: Wir kennen kein Mittel, das einen wirklichen dauernden Schutz vor Läusebefall gewährt. Im günstigsten Falle und bei Anwendung stärkster Dosen geben die immerhin noch wirksamsten Mittel keinen längeren Schutz als 1—2 Tage. Die größte Zahl aller angepriesenen Mittel ist völlig wirkungslos. Gegen die dauernde Anwendung der Mittel spricht ihre starke Geruchsbelästigung für denjenigen, der sie anwendet, und die eventuellen gesundheitlichen Schädigungen. So z. B. habe ich Leute gesehen, die nach dem Tragen von Paradichlorbenzolsäckchen direkt brandfleckenhähnliche Stellen zeigten, auch wenn das Paradichlorbenzolsäckchen auf dem Hemd getragen wurde. Namentlich beim starken Schwitzen brannte die betreffende Körperstelle sehr heftig. Ich habe dies selbst ausprobiert. Bei Anwendung der vielen ätherischen

Oele sind Nierenreizungen in verschiedener Stärke aufgetreten. Die Schwefel- und Quecksilberpräparate haben in manchen Fällen recht unliebsame und schwere Störungen des Allgemeinbefindens mit sich gebracht. Schließlich spricht die Preisfrage auch mit. Eine Person so mit Nelkenöl z. B. zu behandeln, daß eine höchstmögliche Dampfkonzentration in den Kleidern erhalten wird, könnte bei den Jetztpreisen pro Kopf auf einige Mark kommen.

Kurz gesagt, wir kennen noch kein einwandfreies, sicheres Prophylaktikum, aber es soll damit nicht gesagt sein, daß wir nicht eines Tages auf Grund weiterer biologischer Forschung eines finden werden. Das wilde „Erfinden“ von Läusemitteln soll nur durch diese Ausführungen endlich unterbunden werden. Vor allem sind die Mannschaften davor dringend zu warnen! Der Soldat kann sein Geld oder das Geld seiner Angehörigen besser anwenden als für Emro—Kossaklo—Läusedynamit—Nik-O-Laas usw.

Die nachstehende Tabelle gibt eine Uebersicht über die im Handel angepriesenen, oder durch wissenschaftliche Zeitschriften empfohlenen Läuseschutzmittel. Möglichste Vollständigkeit wurde angestrebt; es wird mir aber doch manches entgangen sein. Viele davon habe ich in Originalpackung in den Schützengräben bei den Mannschaften und Offizieren aufgegriffen. Es ist natürlich unmöglich, alle Tageszeitungen und Zeitschriften der letzten Monate auf „Läusemittel“ hin durchzusehen; ich setze aber die Sammlung für eine spätere, umfassendere Arbeit fort und bitte die Herren Leser, mir doch in der Tabelle noch nicht genannte Mittel namhaft zu machen (Hersteller, Preis, Zusammensetzung, Handelsname usw.).

Alphabetisches Verzeichnis der gegen Läuse im Laufe des Feldzuges empfohlenen Mittel.

Bei einigen wurde der Handelspreis in Mark hinzugefügt. Die in Anführungsstrichen sind meist in der Zusammensetzung ungenau bekannt. Die mit + versehenen Mittel sind besonders für die Entlausung von Räumlichkeiten empfohlen worden.

- | | | |
|---|-------------|---|
| 1. Acethylengas + | | 24. „Cardolin“ |
| 2. „Alineu“-Salbe | 1.— u. —.60 | 25. Chloroform |
| 3. Ammoniakgas + | | 26. Chlorotan |
| 4. Anisöl | | 27. Cinol |
| 5. Anisfrüchte, in Säckchen getragen | | 28. „Current“ |
| 6. Anisöl + Baumöl | | 29. „Dalmatin“ |
| 7. Anisöl + Petroleum | | 30. Dalmatiner Insektenpulver |
| 8. Anisol [= Methylphenyläther] | | 31. „Diskretol-Helios“ (3-fach) |
| 9. Anisolcreme | | 32. „Emro“ |
| 10. Anisalpuder | | 33. „Endlich“ |
| 11. Anisol-Schutzmittel (im Inserat wird „hoher Verdienst“ versprochen) | | 34. Essigsäure (roh) |
| 12. „Antikorin“ | | 35. Eukalyptusöl |
| 13. „Antiparasiticum“ | | 36. Fenchelöl |
| 14. „Antipol“ | | 37. Fenchelfrüchte (in Säckchen getragen) |
| 15. Arsenige Säure + Tabakwasser | | 38. Fenchelöl-Creme |
| 16. Asa foetida | | 39. Fenchelöl + Anisöl |
| 17. Benzin | | 40. Feldgrau [= Anisol + Formol + Fenchelöl + Anisöl] |
| 18. Benzol | | |
| 19. Blattan-Kresolpuder [= Trikresol + Anisol] | — .40 | 41. Fett-Imprägnation |
| 20. Bergamottöl | | 42. Formalin |
| 21. Birkenholztee | | 43. „Fort ist die Laus“ |
| 22. Cajeputöl | | 44. „Futsch“ |
| 23. Calmustinktur | | 45. Gaultheria-Oel |
| | | 46. Gleitpuder + Anisöl |
| | | 47. „ + Fruct. piperis nigri pulv. |

48. Gleipuder + Fruct. Sabadill.
49. „ „ + Terpentinöl
50. Globol [= Paradichlorbenzol] (s. 114)
51. „Goldgeist“ (Kriegsmarke extrastark) —.60
52. „Goldspiritus“
53. Graue Salbe
54. Heugeruch
55. Holzessig
56. „Hotehi“
57. Hydrargyrum cum Creta
58. „Insecticidium“
59. Insectol L. homöopathische Streukügelchen
60. „Jocko“
61. Jodoform
62. Isaria-Puder
63. „Juckenicht“
64. „Jucksin“
65. „Juca-Juca“
66. Kampfer
67. Kampferöl
68. Kampfer + Fenchelöl
69. „ „ + Naphthalin
70. Karbolsäure +
71. „Knix“ [lohnender Handverkauf] —.75
72. „Knick-Knack“
73. „Kopfgeist“
74. „Kossaklo“
75. Kresolmethyläther
76. Kresolpuder (Fresenius)
77. „ „ (Sommer) .
78. Kresolseifenlösung +
79. Kümmelöl
80. „Lausetot“
81. „Lausin“
82. „Lausol“
83. Lausofan
84. „Lausweg“
85. „Läuse-Dynamit“
86. „Läusepanzer“
87. Lavendelöl
88. Leucasolpuder
89. Leuchtgas +
90. Lorbeeröl
91. „Mechanol“
92. Menthol
93. Mercolintschurz
94. „Mortifix“ = Parasiten-Tinktur
95. „Mortuntot“
96. Moschus
97. Muskatnußpulver
98. Naphthalin
99. Naphthalin + Benzin
100. „ „ + Fenchelöl
101. „ „ + Terpentin
102. Naphthalin = Salpalcol
103. Naphthalin-Puder
104. Naphthol
105. Naphthor
106. Nelkenöl
107. „Nik-O-Laui“-Puder
108. „ „ -Salbe
109. „Nikolausöl“
110. Oleum betulae
111. „ „ empyrheumaticum
112. Orthodichlorbenzol
113. Paraffin + Anisöl-Imprägnierung
114. Paradichlorbenzol [= Globol] (s. 50)
115. „Parasitin“
116. „Parasitol“
117. „Parasiten-Creme“
118. „Parasiten-Liniment“
119. Parasitensalbe gegen Kriegsläuse
120. „Pedol“
121. „Pedikulin“
122. „Pereat“
127. Persisches Insektenpulver
123. Perubalsam
124. Perugen
125. Petroleum
126. Petroleum + Leinöl
128. Pfeffer, schwarzer, gemahlen
129. „Pfeifferol“
130. „Präfa, Ungeziefer-Salbe“
131. „Propper“ —.60
132. „Plagin“
133. Queissers Anisöl-Läuse-Hilfe
134. „Radikal“, in Kapseln
135. Riedels Läuse-Tod-Tinktur 1.—
136. Rosmarinöl
137. „Russensalbe“
138. „Russapulver“
139. Sabadilleessig
140. „ „ + Naphthalin
141. Salfarkose +
142. Salmiakgeist
143. Salpalcol
144. Schmalzeinreibung
145. Schwefeläther +
146. Schwefelblume [Sulf. subl.]
147. Schwefelpräzipitat [Sulf. praec.]
148. Schwefelseifenschäum
149. Schwefelkohlenstoff +
150. Schweflige Säure +
151. Senföl
152. „Serbol“
153. „Smerton“
154. Sternanisöl
155. „Sualin“
156. Sublimatlösung +
157. Sublimatessig +
158. Sulfidal [Sulf. coll.]
159. Tabaklauge
160. Terpentinöl
161. Tetrachlorkohlenstoff +
162. Texan
163. „Tibinflüssigkeit“ (Fluid)
164. „Tibinsalbenstift“
165. „Tibinpuder“
166. Trichloräthylen
167. Trikresolpuder [= Kresolpuder] (s. 76 u. 77)
168. „Tubex“
169. „Uba“ = Kresolpuder —.60
170. „Ungezieferpomade“
171. „Ungeziefermittel“
172. „Ungezieferstift „Guter Kamerad“
173. „Ungeziefersalbe“

- 174. „Ungeziefertod“
- 175. Vaseline + Naphthalin
- 176. „Wittesin“
- 177. Xylol

- 178. Xylol + Rapsöl
- 179. „Yoko-Yoko“
- 180. „Zibi“
- 181. Zimtöl

Zum Schluß dieser Tabelle möchte ich doch noch auf ein Läusemittel (No. 59) hinweisen, welches einer gewissen Komik nicht entbehrt. In der Zeitschrift „Der Deutsche Drogist“. Jahrg. 1915. p. 69 ist ein Artikel unter der Ueberschrift „Die Laus flieht vor Entsetzen“; dann folgt mit Namensangabe ein Feldpostbrief, der aussagt, wie gut das Mittel geholfen habe, und dann kommt das Rezept der Herstellung des Mittels. Das Rezept wurde der Redaktion des „Deutschen Drogisten“ zugesandt von einem Homöopathen. Sein Läusemittel wird, wie folgt (wörtlich), hergestellt: „Man nimmt eine von den Läusen und macht homöopathisch die 12. Potenz daraus. Davon ein wenig eingenommen, befreit uns für immer von den Läusen. Zu dem Zweck rührt man 1—3 von ihnen mit 1,0 Milchzucker zusammen und hat die 1. Potenz. Hiervon 0,1 und 1,0 Milchzucker verrührt gibt die 2. Potenz. So geht das weiter bis zur 12. Von der 4. an kann die Verschüttelung mit Wasser beginnen. Man kann dann Tropfen herstellen oder auch Streukügelchen. Ich nehme für die kleine Schachtel 50 Pf., ausreichend für 10—20 Mann, fürs Kilo 20 M., ausreichend für ein Regiment, so daß für den Bruchteil eines Pfennigs der Soldat vor dem Ungeziefer geschützt ist. Ich lasse eine Woche hindurch morgens und abends ein Korn (Größe 4) einnehmen, und der Mann ist dann zeitlebens gefeit gegen russische Kleiderläuse. Es ist so gut wie ein Nichts, was er einnimmt, aber die feine Nase der Laus riecht es ihm an und flieht voll Entsetzens darüber. Während des Einnehmens sind Arzneien und Alkoholika zu vermeiden.“ Dieses Mittel führt, wenn ich den eingangs abgedruckten Brief richtig verstehe, den Namen Insectol-Läusemittel.

Recht verdächtig ist bei einer ganzen Reihe der in der Tabelle genannten Mittel, daß auf der Originalpackung keinerlei Angaben stehen, wer das Mittel hergestellt und in den Handel gebracht hat.

In diesem Abschnitt möchte ich noch einen Punkt zur Sprache bringen. Es wird so oft behauptet, wer sich in Pferdedecken einhülle, bei Pferden schlafe, oder viel mit Pferden zu tun habe, der bleibe frei von Läusen. Meine diesbezüglichen Umfragen haben zu ganz entgegengesetzten Urteilen geführt. Tierärzte, Offiziere, Mannschaften, Aerzte habe ich danach gefragt. Die einen behaupteten, es sei tatsächlich ein gutes Mittel — sie hatten auch keine Läuse. Andere wieder, die genau unter denselben Bedingungen lebten (z. B. Schlafen im Pferdestall), waren verlaust. Ja mir wurde gesagt, gerade die Pferdepfleger hätten zuerst von allen Kameraden Läuse gehabt. Die Frage ist also noch ganz ungeklärt und soll später experimentell behandelt werden. Es spielt wohl auch das im ersten Abschnitt besprochene Unempfindlichwerden bzw. Unempfindlichsein hier mit eine Rolle. Unmöglich wäre es ja nicht, daß der den Pferden anhaftende Geruch (vor allem Ammoniakgeruch) die Geruchorgane der Kleiderläuse in Erregung setzt. Die Kleiderlaus befällt nie Pferde, wie auch die Pferdelaus nicht an Menschen geht.

Ferner habe ich auf folgendes geachtet und entsprechende Umfragen gehalten: Ob ein Mensch, der stark schwitzt, leichter von Läusen befallen wird, als einer der wenig schwitzt oder umgekehrt. Auch hier konnte ich kein typisches Verhalten feststellen, d. h. es fanden sich starke Schwitzer, die völlig läusefrei geblieben waren, und solche, die schwer von Läusen befallen wurden. Ganz dasselbe galt von schwachen Schwitzern.

Ebenso konnte in keiner Weise etwas Typisches festgestellt werden, ob Leute mit starker Körperbehaarung stärker befallen wurden, als solche mit schwacher Behaarung.

Recht merkwürdig hat mich folgende Redensart angemerkt, die mir viele, auch urteilsfähige Leute entgegenhielten. Sie sagten: „das beste

Schutzmittel sei ein altes, verschweißtes und recht speckichtes Hemd und Unterhosen, dahinein kämen die Läuse am wenigsten; zöge man ein neues Hemd an, so wären sofort Läuse da.“ Diese Ansicht scheint zunächst alles auf den Kopf zu stellen, da ja sonst Reinlichkeit allerorten gepredigt wird. Bei näherer Prüfung aber erwies sich obige Ansicht doch als richtig, und zwar aus einem ganz anderen Grunde. Es ist die zu hohe Temperatur und zu hohe Feuchtigkeit der Luft zwischen Körper und Unterwäsche, die der Laus nicht zusagt. Ein so recht verschwitztes und verspecktes Hemd läßt nur eine mangelhafte Luftzirkulation zu und die Temperatur steigt über 30°. Wenn nun der Träger des Hemdes noch arbeitet, also, wie jetzt im Sommer, sehr warm wird, so wird es auch der Laus zu warm. Gegen längere Einwirkung dieser Temperatur ist sie empfindlich und verläßt die betreffende Person. Wird ein neues Hemd angezogen, dann sinkt die Temperatur wieder, und jetzt befällt die Laus ihren Wirt aufs neue. Ich fand auch, ganz im Einklang mit obigem, in der heißen Zeit die Läuse besonders in den Außenkleidern (außen unter dem Rockkragen, unter den Achselklappen, auf den Wolldecken der Unterstände). Im Zusammenhang damit steht auch die Tatsache, daß die Mannschaften aussagten: besonders, wenn sie ruhten, kämen die Läuse. Dieses ist ganz erklärlich. Am Tage (resp. in der Nacht), wenn der Mann in Bewegung und bei der Arbeit ist, schwitzt er, und die Zwischenkleidertemperatur wird höher. Die Laus sucht kühlere Kleiderstellen auf, und das ist eben in den Außenkleidern (und an den Schlafdecken). Die außerordentlich hohe Temperatur, welche im Juni/Juli in Russisch-Polen herrschte, hat auch mit zur Verminderung der Läuseplage beigetragen, da die in der nächsten Umgebung des Wirtes (in den Kleidern) herrschende Temperatur und Luftfeuchtigkeit über die normalen Lebensbedingungen der Läuse hinausgingen. Es ist also nicht das unreine Hemd und Hosen, sondern die dadurch verursachten ungünstigen physikalischen Bedingungen, welche einen gewissen persönlichen Schutz gewähren. Damit rede ich keinesfalls der Unsauberkeit das Wort, denn machen wir die Truppe völlig läusefrei, dann ist ein neues Hemd, wie auch in normalen Lebenslagen, eine Wohltat.

Vielleicht auch tragen die bei starkem Schwitzen abgesonderten Salze und Hautfette insofern zur Vernichtung mit bei, indem sie die Tracheenöffnungen der Läuse und die Mikropylzellen der Nissen verstopfen und so die Tiere durch Ersticken zugrunde gehen. Manche der Mannschaften hatten sich mit Fett eingerieben und dadurch eine kurze Linderung der Läuseplage erzielt; manche Läusemittel sind stark fetthaltig und so erklärt sich nach obigem ihre zeitweise Wirkung. Aber, wie gesagt, ein dauerndes und sicher wirkendes Prophylaktikum ist dies auch nicht.

Schließlich will ich noch auf eine Tatsache hinweisen, die mir begegnet ist. Es wurde von den Mannschaften festgestellt, daß in den Unterständen, wo es viele Ameisen gab, die Läuseplage gering sei oder gleich Null. Ja, es hatten findige Köpfe ihre Hemden in Ameisenhaufen gelegt, um sie läusefrei zu bekommen. Auch das ist richtig, denn es ist bekannt, daß Ameisen kleinere, weichhäutige Insekten aufsuchen und fressen. Diese Methode, die Kleider zu entlausen, erwähnt schon Gaulke 1863.

Unter den Hunderten von Mannschaften, welche ich über die Läuseplage befragte, war der Wunsch nach Entlausung rege bis auf einen, ein Ostpreuße, der mir ganz freimütig erklärte: „Läuse müßten sein (bei

ihm); es erinnere ihn so an die Heimat.“ Er war auch stark befallen und schien stolz darauf zu sein. Was in seinen Worten widerklingt, ist eine in manchen Gegenden leider verbreitete Volksansicht: nämlich der Befall durch Läuse sei ein Zeichen der Gesundheit; wie auch Träger des Weichselzopfes diesen nicht abschneiden lassen wollen mit der Begründung, dahinein zögen die kranken Säfte.

Schon im Eingang erwähnte ich die große individuelle Verschiedenheit, mit der Menschen durch Läuse befallen und durch sie geplagt werden. Ich stellte auch Anfragen nach früheren Krankheiten (Masern, Scharlach, Unterleibstypus), aber es ließen sich keinerlei Zusammenhänge herausfinden. Es war z. B. nicht festzustellen, ob ein Mann, der früher Typhus gehabt, besonders stark befallen würde oder nicht.

3. Ueber den Erfolg des bisherigen Kampfes gegen die Verlausung; sowie Ausblicke für die Zukunft dieser Frage.

Den verantwortlichen Leitern der hygienischen Verhältnisse des kämpfenden Heeres wird es wesentlich sein, zu wissen, welches Resultat durch die bisherigen Maßnahmen erzielt wurde. Es sind einmal prophylaktische Mittel an die Mannschaften verteilt worden; der Erfolg ist ein negativer. Ferner sind Hunderte von Entlausungsanstalten oder doch -Behelfsanstalten gebaut worden, welche mit Dampfapparaten oder mit heißer trockener Luft arbeiten. Trotzdem sind noch Läuse bei den Fronttruppen zu finden. Damit soll ja nicht etwa ein Vorwurf erhoben werden. Im Gegenteil! Ich möchte auf einige Faktoren hinweisen, die es wohl immer verhindern werden, daß der Idealzustand — Läusefreiheit — bei allen Formationen erreicht wird.

Einmal müssen wir im Auge behalten, ob wir es mit Truppen zu tun haben, die sich im Stellungskampf befinden, oder solchen, welche in ständiger Bewegung sind. Meine Ausführungen hier beziehen sich nur auf erstere, und ich gebe mein Urteil dahin ab: es ist möglich, eine Truppe im Stellungskampf läusefrei zu machen, auch für längere Zeit, oder doch den Grad der Verlausung auf ein erträgliches Minimum zu reduzieren. Hierbei muß allerdings eine Reihe von Faktoren ineinandergreifen. Zunächst möchte ich vorschlagen, zwei Arten von Verlausung zu unterscheiden: a) Stamm-Verlausung, d. h. eine Person hat entwicklungsfähige Eier sowie Brut und erwachsene Tiere in ihren Kleidern, die ständig Nachkommenschaft erzeugen, und b) Kontakt-Verlausung, d. h. eine Person hat nur wenige Läuse, die sie durch Schlafen im Unterstand, in verlausten Wohnungen durch Anstreifen an Verlauste aufgelesen hat. Sie beherbergt noch keine Eier in in den Kleidern. — Natürlich geht bei mangelnder Sauberkeit die Kontaktverlausung bald in Stammverlausung über.

Wenn z. B. heute ein Ersatzmann mit neuer Kleidung läusefrei ins Feld kommt, dann neben Verlausten sitzt und schläft oder in verlauste Quartiere kommt, und nach 1—2 Tagen bei sich selbst Läuse findet, so kann er diese nur durch Berührung (Kontakt) mit der infizierten Umgebung erhalten haben. Dabei kann es sich natürlich um erwachsene wie junge Tiere handeln, die ihm ankrochen. Jedenfalls trägt einer, der durch Kontakt verlaust wurde, keine Nissen an sich, wie schon betont. Findet man daher bei genauestem Suchen an einem Verlausten keine Nissen, so ist der Befall eben erst geschehen. — Die Unterscheidung

von Stamm- und Kontaktverlausung gibt uns oft recht wichtige Fingerzeige für die Quelle der Verlausung und ich habe durch sie manche interessante Feststellung machen können. Die wesentlichen Faktoren, von denen ich oben sprach, sind folgende (1—5):

1) Es kommt auf den einzelnen Mann an. Jeder muß zur größtmöglichen Sauberkeit erzogen und angehalten werden. Beim Bemerkten von Läusen muß sich eben jeder selbst sofort zur Entlausung melden, denn es ist ein großer Unterschied, ob jemand einige Läuse hat oder zu Dutzenden Eier, Brut und erwachsene Tiere mit sich herumträgt. Es darf keinesfalls aus der Kontaktverlausung eine Stammverlausung werden, denn dann ist ja die Weiterverbreitungsmöglichkeit (da immer neue Generationen gezüchtet werden) eine viel größere.

2) Es hängt viel davon ab, ob die militärische Kommandostelle diesen Dingen das nötige Verständnis entgegenbringt und den Dienst zu Zeiten, wo dies möglich ist, so einzuteilen weiß, daß auch kompagnie- oder doch mindestens zugweises Entlausen möglich ist.

3) Von seiten des betreffenden Truppenarztes oder der genau zu unterrichtenden Sanitätsfeldweibel muß eine ständige Durchmusterung der Mannschaften abgehalten werden. Der betreffende Arzt muß sich nötigenfalls persönlich davon überzeugen, ob jemand mit Läusen behaftet ist oder nicht. Die Mannschaften melden sich nicht immer, weil ihnen der Weg zur Entlausungsanstalt zu weit ist, oder sie wissen gar nicht, daß sie Läuse haben. Besonders solche nicht, bei denen eine Gewöhnung an Läusestiche eingetreten ist (siehe Abschnitt 1).

4) Es ist unbedingt nötig, daß die Entlausungsanstalt von nur zuverlässigen Personen bedient wird. Wenn hier Nachlässigkeiten aller Art, ungenügende Behandlung der Personen und Kleider vorkommen, so ist natürlich die ganze Einrichtung problematisch. Auch hier wird der leitende Arzt ständig Stichproben machen müssen, daß alles vorschriftsmäßig gehandhabt wird. Ferner darf die Anstalt nicht überlastet sein. Besonders bei Anwendung von heißer Luft und zu raschem Wechsel der Bestückung der Kammer kommt es zu stärkerer Abkühlung in derselben und die ganze Sache funktioniert eben nicht.

5) Von besonderer Bedeutung ist die Frage des Wechselns der Unterstände. Liegt eine Kompagnie z. B. lange in denselben Unterständen, so wird sie schon von selbst für Läusefreiheit derselben nach und nach sorgen. Werden aber die Abteilungen stark hin und her geschoben, so bleibt für alles übrige wenig Zeit und die Verlausung nimmt zu.

Der letzte Punkt führt uns zur Unterstandsfrage überhaupt. Ist es möglich, einen Unterstand zu entlausen? Darauf gebe ich folgende Antwort ab: Die Art der Unterstände, wie ich sie in Russisch-Polen gesehen, ist nicht mit einem Male zu entlausen. (Der Boden rollender Sand, eingedeckt mit Rundhölzern, die mit Moos, Gras, Rasenstücken ausgestopft sind; als Lager altes Stroh oder Holzwolle, oft $1\frac{1}{2}$ m hoch.) Jede Desinfektion, etwa durch Auskalken, Ausschweifeln oder durch Verspritzen von Kresolseifenlösung oder Sublimat wäre zwecklos, ganz abgesehen davon, daß damit eine Geruchsbelästigung verbunden wäre, die nicht auszuhalten ist. Diese Unterstände kann man nur nach und nach läusefrei bekommen dadurch, daß man einmal dieselben ausräumen läßt, dann die Wandverstopfung erneuert, das alte Stroh usw. entfernt, den obersten Sand des Bodens ausschauft und

dann alles mit einwandfreiem Stroh usw. neu herrichtet. Ferner aber müssen sich die Mannschaften gründlich entlausen, ehe sie den Unterstand neu beziehen, natürlich auch ihre Zeltbahnen, Decken usw. Schließlich muß ein ständiges Entlausen der Bewohner eines solchen Unterstandes stattfinden, um die Läuse, die doch noch irgendwo versteckt und verstreut waren, gleichsam durch Evakuieren zu vernichten. Zu einer Stammverlausung darf es gar nicht mehr kommen. Nötigenfalls muß die Renovierung eines solchen Unterstandes in kürzeren Pausen (etwa jede Woche) wiederholt werden. Trotz großer Bemühung wird auch dieses Verfahren nicht immer zum Ziele führen, es sind die Lokalverhältnisse ja recht mannigfache.

Mir ist es vielfach begegnet, daß die Mannschaften einzelne Unterstände als besonders verlaust kannten, und wo auch alles Säubern nichts nützte. Schließlich bauten sich die Leute ganz neue Unterstände. Das geht aber nicht immer, und so bleibt in diesen Fällen nur die allmähliche Säuberung und die Niederkämpfung auf ein erträgliches Minimum. Daß es völlig läusefreie Unterstände gibt neben verlausten in derselben Kompagnie, ist mir oft genug begegnet. Ja, ich habe Kompagnien getroffen, die gar keine Läuse mehr hatten, bei sonst gleichen Bedingungen zu ihren Nachbarkompagnien, also ein Beweis, daß Unterstände und Mannschaften bei ernster Bemühung und Sorgfalt von Ungeziefer frei zu halten möglich ist. Alles dies gilt aber nur für den Stellungskrieg einmal und auch nur dann, wenn nicht die einzelnen Formationen innerhalb der Geländeabschnitte ständig verschoben werden müssen.

Nachfolgend gebe ich einige Prozentzahlen der Verlausung. Sie sind insofern lehrreich, als sie einen recht schlagenden Beweis geben, was erreicht werden kann einerseits, andererseits wo es noch an manchem fehlt. Einer der oben auseinandergesetzten fünf Faktoren oder auch mehrere haben im zweiten Falle nicht funktioniert. Die Kompagnieen bezeichne ich einfach mit a—g.

Kompagnie a)	es waren verlaust	65 %	} Kontakt- und Stammverlausung
" b)	" " "	46 "	
" c)	" " "	40 "	
" d)	" " "	33 "	
" e)	" " "	14 "	
" f)	" " "	6 "	
" g)	" " "	0 "	

Da die Kompagnieen a—g unter denselben Bedingungen in der Front standen, so fallen die ganz verschiedenen Prozentzahlen auf. Was der einen möglich ist, muß auch bei der Nachbarkompagnie erreichbar sein. Meines Dafürhaltens ist es bei richtigem Zusammenwirken der oben erwähnten Faktoren 1—5 auch möglich, die Verlausung auf 10 bis 15 Proz. herabzudrücken, d. h. auf ein erträgliches Maß, nicht immer wird man den Idealzustand = 0 Proz. erreichen. Schließlich fragt es sich auch, wie lange die völlige Läusefreiheit anhält. Darüber kann ich heute noch keine Angaben machen. Ob Wochen oder Monate? Sicher aber ist, daß sie nur so lange anhält, wie ein ständiger Kampf gegen die Parasiten im Gange ist. Es hat sich herausgestellt, daß die Entlausungsfrage keine akute Tagesfrage ist im modernen Kriege, sondern sie ist zu einer ständigen Aufgabe geworden.

In den Sommermonaten ist überhaupt die Verlausung wesentlich zurückgegangen, die leichtere Reinigungsmöglichkeit, die hohe Sommer-

temperatur und die im Laufe des Feldzuges erworbenen Kenntnisse vom Leben der Laus spielen da eine Rolle; im kommenden Winter werden wir uns auf ein stärkeres Anwachsen der Läuseplage gefaßt machen müssen, aber jetzt stehen wir den Parasiten nicht mehr ungerüstet gegenüber und das ist das Wesentlichste für die Niederkämpfung derselben. (G. C.)

Literatur.

Von der vorhandenen Literatur zitiere ich nur einige Arbeiten — ca. 100 sind vorhanden — in denen weitere Quellenangaben zu finden sind.

- 1) Hase, A., Beiträge zu einer Biologie der Kleiderlaus. Mit 47 Abbild. Berlin 1915. (Zeitschr. f. angewandte Entomologie. Bd. 2. Heft 2.)
- 2) N. N. (anonym), Ungezieferplage und Ungezieferbekämpfung. Herausgeg. vom Deutschen Verlag für Volkswohlfahrt Dresden. Dresden-N. 1915.
- 3) Versluys, J., Die Verbreitung von Seuchen durch Insekten und andere Gliederfüßler im Kriege. (Bericht der Oberhessischen Gesellschaft für Natur- u. Heilkunde zu Gießen. Neue Folge. Naturwiss. Abt. Bd. 6. 1914.)

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zu der Arbeit: „Zur Bekämpfung der Kleiderläuse“ von Dr. A. Zucker in Heft 4. Bd. 76 dieser Zeitschrift.

Von **H. Sikora**, Hamburg,
Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten.

Die Angaben des Herrn Dr. Zucker über die Anatomie und Biologie der Kleiderläuse weichen stellenweise so sehr von den ausführlichen Beschreibungen anderer Autoren und meinen eigenen Beobachtungen ab, daß ich nicht umhin kann, darauf hinzuweisen.

Auf dem Mikrophotogramm No. 5, das das äußerste Kopfbende darstellt, bezeichnet Zucker eine helle Stelle als „Saugpumpe“; die erste Saugpumpenabteilung beginnt aber erst viel weiter im Innern des Kopfes. Das als Saugpumpe bezeichnete ist die Saugröhre, die „Stachelscheide“ Zuckers.

Weiterhin steht: „Bei der Rückenlage des Tieres hebt sich aus dem durch das aufgenommene Blut rotbraun gefärbten Darm (Magen) ein rundliches, weißes Organ von bei den verschiedenen Individuen wechselnder Gestalt ab, das mit dem Darm fest verwachsen scheint, weil es an den peristaltischen Bewegungen desselben teilnimmt. Es ist die schon von Friedenthal erwähnte Speicheldrüse.“ Aus der Beschreibung und aus dem Mikrophotogramm 7, das das Abdomen der Laus mit dem fraglichen Gebilde darstellt, ist zu ersehen, daß es sich um die schon 1864 von Landois beschriebene Magenscheibe oder „Leber“ handelt — ein ziemlich kompliziertes Organ, dessen Funktion bis auf den heutigen Tag rätselhaft geblieben ist. Die Speicheldrüsen der Laus — ein Paar im Kopfe und zwei Paar in der vorderen Thoraxhälfte, vor und über dem Magen — sind zum Teil schon von Landois, und neuerdings

von Eysell und von Patton und Cragg beschrieben und abgebildet worden.

Die Angaben Zuckers auf p. 300: „Die Eier liegen in Eiröhren, und werden nach Fertigstellung von einem in Anhangsdrüsen gebildeten Leim (Kitt) überzogen. Die Eier machen ihre ganze erste Entwicklung im Eileiter durch. Durch geeignete Färbungsmethoden hebt sich die Leimsubstanz deutlich von den darin eingebetteten Eiern ab“ zusammen mit der Bemerkung auf p. 298: „... Eierstöcke mit Anhangsdrüsen für Schalenbildung und Kitterzeugung“ sind geeignet, den Eindruck zu erwecken, als ob sich bei den Läusen die Eier in einer eigenartigen, von anderen Insekteneiern abweichenden Weise entwickeln würden.

Wie schon Landois feststellte, hat die Laus auf jeder Seite 5 Eiröhren. In diesen, und nicht in den Eileitern, machen die Eier ihre Entwicklung durch. Die Schale des Eies wird in den Keimfächern der Eiröhren gebildet (Claus, Lehrb. d. Zoologie). In Kittmassen eingebettete Eier findet man nur in kranken Läusen, die zu legen aufhörten und vor dem Tode stehen. Normalerweise überzieht der Kitt nicht, wie man es nach Zuckers Darstellung erwarten sollte, das ganze Ei, sondern nur den hinteren Eipol. Auf p. 301 steht: „Die tote Laus wird nach einiger Zeit durch Verhornung der Chitinschicht dunkelrot bis schwarz...“. Die Annahme, daß das Chitin einer toten Laus verhornt, scheint mir jeder chemischen Grundlage zu entbehren.

Ich erhielt, im Gegensatz zu Zucker, wiederholt von gefangenen Läusen, die ohne Futter (bei ca. 20° in der Nähe der Heizungsanlage) auf Lappen in hohen Gläsern gehalten wurden, Eier. Die in der Literatur oft wiederholte Behauptung, daß Läuse nach 3 Tagen verhungern, kann ich für im Laboratorium bei Zimmertemperatur gehaltene Läuse bestätigen. Zucker zweifelt sie mit der Begründung an, daß es sich da um bereits längere Zeit hungernde Läuse handelt. Nun ist es doch sehr unwahrscheinlich, daß jemand die Leichtfertigkeit besitzen sollte, zu einem wissenschaftlichen Versuch, wie lange ein Tier zu hungern vermag, ein schon durch Hunger geschwächtes Tier zu verwenden. Bei gewöhnlichen Zimmertemperaturen sah ich Läuse nicht über 3, im Winter 4 Tage am Leben bleiben. Die längste Lebensdauer einer hungernden Laus in der Kälte ist von Hase (mit 10 Tagen) beobachtet worden; Zucker teilt nicht mit, ob seine höchst bemerkenswerte Angabe, „daß gesättigte Läuse wochenlang in Tornistern etc. ohne Nahrung leben können“, auf eigener Beobachtung beruht.

Daß stark riechende Substanzen, wie Zucker annimmt, die Tracheen der Läuse verstopfen könnten, vermag ich mir nur vorzustellen, wenn man die Tiere damit geradezu bestreicht oder begießt.

Nachdruck verboten.

Versuche zur Vertilgung von Zieselmäusen mittels Ratin.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Landwirtschaftskammer für die Provinz Sachsen. (Vorstand: Prof. Dr. H. Raebiger.)]

Von **F. Kleine**, Halle a. S.

In Bd. 70. Heft 7. 1913 dieser Zeitschrift erschien ein Artikel von **Mereshkowsky-Petersburg** über die von ihm im Jahre 1912 „in Bessarabien an Zieseln angestellten Untersuchungen“.

Bei dieser Gelegenheit erwähnt er, daß er keinen Grund hätte, mit uns anzunehmen, daß die Frage der Zieselvertilgung mittels Bakterienverfahrens durch Laboratoriumsversuche „absolut nicht lösbar sei“, weil die von uns mit Zieselmäusen angestellten Infektionsversuche insofern kein eindeutiges Resultat zuließen, als die Lebensfähigkeit unserer Versuchstiere durch die Fangmethode (Wassereingießen in die Schlupflöcher) herabgesetzt war. Seine Zieselfangmethode vermeidet diese angeblichen Nachteile, so daß er auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schlusse kam, auch im Laboratorium die Frage der Empfänglichkeit der Ziesel gegenüber den ratten- und mäusetötenden Bakterien lösen zu können.

Dies veranlaßt uns, unsere im Jahre 1907 sowohl im Laboratorium als auch in der Praxis angestellten Versuche über die Brauchbarkeit der Ratinbacillen zur Zieselvertilgung wiederzugeben.

Zu den Versuchen im Laboratorium verschafften wir uns 36 Ziesel vom Truppenübungsplatz Lamsdorf.

Trotz Unterbringung in einem großen Raume bei guter Pflege und Fütterung hielten die Tiere sich nicht lange in der Gefangenschaft.

Schon vor Aufnahme der Ratinversuche wurde eine große Sterblichkeit beobachtet, so daß schließlich nur 6 Tiere der Fütterungsinfektion ausgesetzt werden konnten. Diese starben sämtlich innerhalb 5—10 Tagen nachweislich an Ratininfektion.

Um nun die Empfänglichkeit der Ziesel für Ratin in der Praxis zu prüfen, erachteten wir es für notwendig, an Ort und Stelle auf einem zur Beobachtung gut geeigneten Gelände einige Versuche anzustellen.

Wir wandten uns daher an die Kommandantur des Truppenübungsplatzes Lamsdorf, welche sich bereit erklärte, die Ratinauslegungen zur Zieselbekämpfung vorzunehmen.

Es wurden nunmehr zu diesem Zweck 25 l Ratinkulturen zur Verfügung gestellt, die nach Vereinbarung auf einem größeren Gelände ausgelegt werden sollten.

4 Wochen nach erfolgter Auslegung ging uns von der Kommandantur folgender Bericht zu, den wir, kurz zusammengefaßt, wiedergeben.

Die Versuche wurden in dreifacher Weise auf 6 verschiedenen, räumlich voneinander getrennten Teilen des Platzes nach genauer Anweisung des Instituts vorgenommen.

I. Versuch:

Auf einem Geländeteil von rund 28 m Breite und 900 m Länge = 2,5 ha wurden Weißbrotbrocken, die mit Ratin infiziert waren, ausgelegt.

II. Versuch:

Abgekochte, gestampfte und nach dem Erkalten mit Ratin zu einem dicken Brei verrührte Kartoffeln wurden einmal auf einem Geländestück von rund 30 m Breite und 750 m Länge = 2,25 ha und ferner auf einer Fläche von rund 45 m Breite und 1000 m Länge = 4,5 ha ausgelegt.

III. Versuch.

Zu dieser Auslegung wurden infizierter Roggen und Erbsen verwendet.

Zwei Geländestreifen, der eine von rund 40 m Breite und 500 m Länge = 2 ha und der andere von 50 m Breite und 450 m Länge = 2,25 ha dienten zu den Versuchen mit Roggen, ein Gelände von 50 m Breite und 185 m Länge = 0,9250 ha zu den Versuchen mit infizierten Erbsen.

Die Witterung war für die Auslegung günstig. Die belegten Versuchsstücke wurden täglich beobachtet und hierbei festgestellt, daß weder verendete Zieselmäuse gefunden, noch irgendwelche Anzeichen der Wirkung des Ratin sich bemerkbar gemacht hatten.

Ein Aufgraben der Baue war nicht statthaft, weil das Gelände für die Uebungen geschont werden mußte. Jedenfalls konnte eine Verminderung der Tiere nicht festgestellt werden.

„Um trotz der Ungunst dieser Verhältnisse Anhaltspunkte für einen Maßstab zur Beurteilung der Ratinwirkung auf Ziesel zu erhalten, wurden 5 gutgenährte, kräftige Tiere gefangen und sorgfältig gepflegt.

Nachdem sie sich an die neuen Lebensverhältnisse gewöhnt hatten, erhielten sie in Ratin getauchte Weißbrotstückchen, die sie auch gut aufnahmen.

Am 5. Tage nach dieser Fütterung verendete ein Tier, und vom 6. Tage ab verweigerten die überlebenden 4 Tiere die Aufnahme des Infektionsmaterials. Am 9. und 10. Tage verendeten noch 2 Tiere, die letzten beiden blieben in gutem Gesundheitszustande am Leben.

Die verendeten Tiere waren stark abgemagert (Folge von Darmkatarrh), doch konnte die Todesursache nicht festgestellt werden.

Um Anhaltspunkte zur Beurteilung etwaiger Verminderung der Zieselmäuse auf den mit Ratinkulturen belegten Geländestücken zu haben, wurde versucht, sämtliche noch lebende Tiere auf dem einen behandelten Teil durch Eingießen von Wasser in die Baue zu fangen.

Hierbei wurden 23 Stück gezählt, die auch keinerlei sichtbare Krankheitserscheinungen zeigten.“

Nach Ansicht der Kommandantur ließ „dies Ergebnis auf eine Verminderung der Tiere — eine nennenswerte wenigstens — infolge Ratininfektion nicht schließen“.

Danach wurden auf unsere Anregung hin in Lamsdorf nochmals ausgedehnte Beobachtungen und Versuche an 16 mittels Wassers lebend gefangenen Zieseln behufs Infektion mit Toxin-Ratin (dem Ergänzungspräparat des Ratinsystems)¹⁾ angestellt.

In dem uns daraufhin zugestellten Bericht heißt es wörtlich:

„Die Verhältnisse der Gefangenschaft wurden den natürlichen Lebens-

1) Vgl. Bahr, L., Ueber Ratin II. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910. Heft 3.)

bedingungen der Tiere möglichst angepaßt. Zum Schutz gegen kalte Witterung wurde ihnen Heu, zur Ausübung ihrer Wühltätigkeit Erde reichlich gegeben, außerdem wurde der Käfig, soweit angängig, der Sonne ausgesetzt. Behufs Gewöhnung an die neuen Lebensverhältnisse wurden ihnen zur Nahrung Getreidekörner, Brot und Mohrrüben geboten, die sie besonders lieben; Wasser verweigerten sie.

Trotz sorgfältiger Pflege litt der größte Teil der Tiere von Anfang an sichtlich, wohl an den Folgen der durch die Gefangenschaft unvermeidlich geänderten Lebensweise. Auch wurden die Ziesel nach erfolglosen Befreiungsversuchen mutlos und zeigten nur noch geringe Freßlust. 4 Ziesel krepiereten vor Verabreichung des Infektionsmaterials.

An den überlebenden 12 Zieseln wurden Versuche mit Toxin-Ratin-Weißbrot, Toxin-Ratin-Kartoffeln und mit Strychnin-Getreide als Nebenversuch in gleichem Umfange angestellt.

Vor und nach der Verabreichung dieser Gifte wurde jede andere Nahrung ausgesetzt, um die Tiere hungrig zu machen.

Dabei wurde beobachtet, daß die Ziesel sehr lange Hunger ertragen können.

Einige wenige Körner des Strychnin-Getreides zerbissen sie anfangs, ohne jedoch die Stücke nachher weiter zu genießen, späterhin — anscheinend nach genauer Bekanntschaft und empfundenem Mißtrauen — rührten sie dieses Gift nicht mehr an.

Die Toxin-Ratin-Brocken, selbst in Toxin-Ratin getauchte Mohrrüben verschmähten die Tiere trotz sichtlichen großen Hungers gänzlich. Dabei magerten sie stark ab, verschmähten stets Wasser, nahmen aber ausnahmsweise dargereichte Blätter oder gute Mohrrüben sehr gierig auf.

Innerhalb 12 Tagen krepiereten sämtliche 12 Versuchstiere unter gleichen Erscheinungen, wie die 4 schon vor dem Versuch gestorbenen Ziesel.

Die stark abgemagerten Tiere waren von heftigem Zittern und Zuckungen befallen, welche nach 24 Stunden zum Tode führten.

Die Ursache des Absterbens konnte nicht festgestellt werden, doch dürften dabei die angewendeten Giftstoffe zweifellos ausgeschlossen sein.“

Zusammenfassung.

Nach dem Ergebnis dieser Versuche scheint uns der Schluß berechtigt, daß die bakterielle Zieselmausbekämpfung in der Praxis keine Aussicht auf Erfolg bietet. Die Vertilgung der Schädlinge mittels eines Bakterienverfahrens ist auch Mereshkowsky trotz seiner Fangmethode nicht gelungen, obgleich seit Veröffentlichung seiner Versuche ca. 2 Jahre verflossen sind.

Die Bekämpfung der ebenso gefährlichen wie schädlichen Nager wird daher auch fernerhin in der Beschickung der bebauten Röhren mit Schwefelkohlenstoff zu bestehen haben.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die desinfizierende Kraft der desinfizierenden Stoffe im Verhältnis zu ihrer Konzentration.

[Aus dem Institute für allgemeine Pathologie der Universität Kopenhagen (Direktor: Prof. Dr. C. J. Salomonsen).]

Von Privatdozenten Dr. med. **J. P. Gregersen**,
Oberarzt am Bispebjerg-Hospital, Kopenhagen.

Krönig und Paul (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25. 1897. p. 1) lieferten einige der wichtigsten Untersuchungen, welche jetzt die Grundlage für unsere Kenntnis der Desinfektionsprozesse bilden. Sie schufen eine Versuchstechnik, welche diejenigen Forderungen befriedigt, die man an rationelle Desinfektionsversuche stellt; ihre Technik ist im wesentlichen von späteren Forschern auf diesem Gebiet befolgt worden.

Krönig und Paul gebrauchten zu ihren Untersuchungen eingetrocknete Bakterien. Kleine, rundliche Körperchen (böhmische Granaten) von gleicher Größe wurden mit einer Emulsion der betreffenden Bakterien befeuchtet und getrocknet, und zwar in der Weise, daß die Bakterien eine dünne Haut auf der Oberfläche der Granaten bilden. Die so präparierten Granaten enthalten pro Granat ungefähr gleich große Mengen Bakterien. Sie wurden beim Versuch in der gewünschten Zeit in der entsprechenden desinfizierenden Lösung angebracht, und nachdem der desinfizierende Stoff sorgfältig entfernt worden war (durch Ausspülen oder auf andere Art), wurden die Bakterien von den Granaten abgeschüttelt; durch Aussaat auf Agar wurde dann die Zahl der zurückgebliebenen, lebensfähigen Keime gezählt.

Als Maß für die desinfizierende Kraft der untersuchten Lösungen benutzten Krönig und Paul nicht die Zeit, die zur Zerstörung aller auf den Granaten sitzenden Bakterien draufging; in den meisten Versuchen wurde die desinfizierende Wirkung der Lösungen nicht nach Verlauf einer so langen Zeit untersucht, daß man zu vollständiger Desinfektion gelangen konnte.

Als Vergleich zwischen der desinfizierenden Fähigkeit der verschiedenen Lösungen diente diejenige Zahl lebensfähiger Keime, die zurückblieb, nachdem die verschiedenen Lösungen in einer Reihe verschiedener Zeiträume auf die Granaten eingewirkt hatten. Krönig und Paul untersuchten deshalb bei jeder einzelnen Lösung, wieviel lebensfähige Keime zurückblieben, und zwar, nachdem die Lösung beziehungsweise 1, 2, 3, 4 Minuten usw. gewirkt hatte.

Da die auf den Granaten eingetrockneten Bakterien allmählich an Widerstandskraft abnehmen, und da man im voraus nicht weiß, ob die Bakterien in einer neuen Aufschwemmung die gleiche Widerstandskraft besitzen werden wie die Bakterien von früher angewandten Aufschwemmungen, so brauchten Krönig und Paul eine „Vergleichszahl“, indem sie für alle bei den verschiedenen Versuchen angewandten Granaten untersuchten, wie viele lebensfähige Keime nach Einwirkung einer 1,69-proz. Sublimatlösung während einer gewissen Zeit zurückblieben.

Da die Anzahl der lebensfähigen Keime, die auf den Granaten zurückbleiben, nachdem eine Reihe von Desinfizienten, und zwar jedes für sich und im gleichen Zeitraum, auf sie eingewirkt haben, desto geringer ist, je stärker die desinfizierende Kraft ist, erfuhren Krönig und Paul durch Vergleich dieser Zahlen die Reihenfolge der Stoffe bezüglich ihrer desinfizierenden Kraft. Hierdurch konnte aber doch kein quantitatives Maß für die desinfizierende Kraft bekommen, denn wie aus den Versuchen hervorging, ist die nach einer gegebenen Zeit anwesende Zahl lebensfähiger Keime kein numerischer Ausdruck für die desinfizierende Kraft des Stoffes. Krönig und Paul stellten folglich auch keine numerischen Werte für die desinfizierende Kraft der verschiedenen untersuchten Desinfizienten auf.

Madsen und Nyman (Comm. de l'Institut. sérothérap. de l'État danois. 1908. p. 107) zeigten, teils auf Krönigs und Pauls, teils auf eigenen Untersuchungen fußend, daß die Zahl der lebensfähigen Keime im Verlaufe der Einwirkung eines Desinficiens in einer im Verhältnis zur Zeit gesetzmäßigen Weise sukzessive abnehmen muß, und zwar der Formel für den Verlauf der monomolekularen Reaktionen entsprechend:

$$\frac{1}{t_2 - t_1} \log \frac{n_1}{n_2} = K$$
 (K ist eine Konstante). Der Wert des K, den man erhält, wenn die beiden Zeiten (t_1 und t_2) und die nach Verlauf derselben zurückgebliebene Anzahl lebensfähiger Keime (n_1 und n_2) in die Formel eingesetzt werden, ist ein Ausdruck für die Schnelligkeit, mit welcher der Desinfektionsprozeß im gegebenen Falle verläuft. Je schneller die Zahl der lebensfähigen Keime während des Verlaufes der Desinfektion abnimmt (je stärker die Vernichtungskurve verläuft), desto größer wird K, und desto größer ist die desinfizierende Kraft der angewandten Lösung.

Es ergab sich also, daß K, in den untersuchten Fällen für den Verlauf jedes einzelnen Desinfektionsversuches berechnet, konstant war, und zwar größer oder kleiner, je nachdem die desinfizierende Fähigkeit der betreffenden Lösung kräftiger oder geringer war, jedoch konstant für jede einzelne Lösung unter denselben Verhältnissen (in derselben Konzentration, bei derselben Temperatur, gegenüber derselben Bakterienaufschwemmung).

Madsen und Nyman schlugen vor, diese Konstante als einen numerischen Ausdruck für die desinfizierende Kraft in den gegebenen Verhältnissen zu benutzen, also, mit anderen Worten, als ein neues Maß für die desinfizierende Kraft. Spätere Untersucher, wie: Paul, Birstein und Reuz (Biochem. Zeitschr. Bd. 25. 1910. p. 366) fanden gleichfalls, daß K im Verlaufe der verschiedenen Desinfektionsprozesse konstant war.

H. Chick (The Journ. of Hyg. 1908) fand für K bei Phenol gegenüber Anthrax konstante Werte, jedoch nicht bei Phenol gegenüber Paratyphus.

Reichenbach (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 69. 1911) fand, daß K bei Desinfektionsversuchen sowohl mit Sublimat wie mit Wärmedesinfektion gegenüber Milzbrandsporen konstant war (d. h. daß die Vernichtungskurve dem Verlaufe der monomolekularen Prozesse entsprach); dagegen zeigten Versuche mit einer anderen sporenbildenden Bakterie ein ganz anderes Resultat, indem K hier während des Verlaufes der Versuche

absolut keine konstanten Werte gab. Reichenbach zieht hieraus den Schluß, und zwar auf eine längere theoretische Entwicklung gestützt, daß das sukzessive Abnehmen der Bakterien im Verlaufe eines Desinfektionsprozesses (Verlauf der „Vernichtungszeit“) nur davon abhängt, wie die Bakterienkultur zusammengesetzt ist. Wenn die Kulturen eine Reihe von Altersklassen, eine Mischung von verschiedenen Generationen mit verschiedener Widerstandskraft enthalten, müssen die Bakterien während eines Desinfektionsprozesses sukzessive nach einer Kurve absterben, welche wiederum vom Gehalte der Kultur an verschiedenen widerstandsfähigen Individuen abhängig ist. Reichenbach meint also, daß der Verlauf der „Vernichtungskurve“ nur ein Ausdruck für die Zusammensetzung der Bakterienkultur und nicht für das Wesen des Desinfektionsprozesses ist, und er verwirft deshalb die Anwendung des Ausdruckes für den Verlauf der Vernichtungskultur (K) als Maß der desinfizierenden Kraft.

Rein abgesehen von der Frage über die theoretische Berechtigung zur Anwendung der von Madsen und Nyman vorgeschlagenen Desinfektionskonstante, spricht die Schwierigkeit, diese zu bestimmen, dafür, ob es möglich sei, ein anderes Maß für die desinfizierende Kraft zu finden. Dieselbe Technik bei der Bestimmung dieser Konstante: Darstellung von Granaten, jede mit der gleichen Anzahl von Bakterien (dies ist ja eine der Bedingungen, um überhaupt das K bestimmen zu können), die vollständige Abspülung der Bakterien von den Granaten und auch das genaue Nachzählen, zeigt große Fehlerquellen.

Es wäre deshalb wünschenswert, einen anderen numerischen Ausdruck für die desinfizierende Kraft zu finden, ein Maß, welches man ohne die oben genannte Möglichkeit einer Fehlerquelle bestimmen könnte.

Das einfachste, nächstliegende und, rein praktisch gesehen, wünschenswerteste Maß für die desinfizierende Kraft würde nach meiner Meinung die Angabe der Zeit sein, die zum vollständigen Zerstören aller der bei der Probe benutzten Bakterien draufgehen würde, vorausgesetzt, daß diese Desinfektionszeit sich mit hinreichender Genauigkeit bestimmen läßt.

Madsen und Nyman wenden gegen diese Methode ein, daß die absolute Vernichtungszeit sich nur sehr ungenau feststellen läßt (und zwar mit einem Unterschiede von mehreren 100 Prozenten). weil man beim Versuche, diese zu bestimmen, sehen wird, daß während eines langen Zeitraumes Wachstum und Hemmung unaufhörlich schwanken, d. h. daß es keine scharfe Grenze gibt zwischen Wachstum und Hemmung. Versuche zur Stütze dieser Behauptung werden nicht angeführt.

Dies könnte in den Fällen zur Geltung kommen, wo einige Proben der angewandten Bakterienportionen einzelne starke, resistente Individuen enthielten, andere wiederum nicht; dies ist aber von vornherein nicht wahrscheinlich, wenn die angewandte Bakterienmenge so groß ist, daß die Möglichkeit vorhanden ist, daß alle Proben mehrere resistente Individuen enthalten. Denn es ist ja klar, daß bei dieser Methode nur die resistentesten Individuen der angewandten Mischung für das Resultat maßgebend sind.

Aber die Frage, ob eine Möglichkeit vorhanden ist, die „Vernich-

tungszeit“ eines gegebenen Desinficiens unter den gegebenen Verhältnissen (Konzentration, Temperatur, Bakterie) mit befriedigender Genauigkeit zu bestimmen, kann natürlich nur durch direkte Versuche entschieden werden.

Da die Entscheidung dieser Frage mit derjenigen einer Möglichkeit der Anwendung der Vernichtungszeit als Maß für die desinfizierende Kraft der Desinfizientien zusammenfällt, habe ich eine Versuchsreihe vorgenommen, um die Frage möglicherweise beantworten zu können.

Die Technik meiner Versuche, die im wesentlichen derjenigen von Krönig und Paul entspricht, ist folgende: Die Bakterienkultur wurde auf schrägen Agargläsern angelegt. Nach 2-tägigem Aufenthalt im Thermostaten war reichliches Wachstum bemerkbar. Es wurden 3 ccm steriler 0,8-proz. Kochsalzlösung zugesetzt. Mit Hilfe von Spatel und energischem Schütteln während 6—10 Minuten wurden die Bakterien in der Flüssigkeit zu einer dichten Emulsion gepeitscht, welche durch Papierfilter filtriert wurde, wodurch ja größere Klumpen und Flocken entfernt werden, so daß man eine homogene Emulsion von Bakterien erhielt. Zu derselben wurde die gewünschte Anzahl von Granaten zugesetzt. Diese waren sortiert, so daß sie von derselben Größe und rundlicher Form waren. Sie waren im voraus mit rauchender Salzsäure ausgekocht, gewaschen, getrocknet und trocken sterilisiert worden. Nachdem man wenige Minuten hindurch die Granaten in der Bakterienemulsion umgeschüttelt hatte, wurde die Flüssigkeit abgegossen, die Granaten wurden auf einen Trichter gelegt, dessen Spitze mit etwas Filtrierpapier geschlossen war. Nachdem die überschüssige Flüssigkeit abgelaufen war, wurden die Granaten auf dem Boden einer Glasschale ausgebreitet (jetzt also mit der Bakterienemulsion befeuchtet), im Exsikkator getrocknet und (im Dunkeln) in einem verschlossenen Glasbehälter aufbewahrt. Sie sind jetzt zum Gebrauche fertig. Die Granaten werden in der Regel nur am Anfertigungstage zu Versuchen benutzt; wenn dieselbe Portion länger als 1 Tag angewandt wurde, unterwarf ich sie an jedem der folgenden Tage derselben Probe, und zwar mit demselben Desinficiens, wie am ersten Tage, um mich dadurch zu vergewissern, daß ihre Resistenz unverändert war; sonst wurde eine neue Portion hergestellt.

Das Zählen der Bakterien auf den Granaten, die auf diese Weise hergestellt worden waren, wurde nur in einem einzelnen Versuch vorgenommen; es waren ihrer ca. 100 000 pro Granat.

Die Bestimmung derjenigen Zeit, welche eine gegebene Lösung eines Antiseptikums dazu gebraucht, um alle die auf dem Granat vorhandenen Bakterien zu vernichten (welche ich der Kürze halber Vernichtungszeit nenne), wurde auf folgende Weise vorgenommen: Von der gegebenen Lösung wurden 4 ccm abpipettiert und in einer Reihe kleiner, zylinderförmiger Gläser mit dicht verschließbarem Pfropfen (Rauminhalt der Gläser ca. 10 ccm) untergebracht. Der Granat wird mit einer Pinzette in die Flüssigkeit gelegt und, nachdem er in derselben die gewünschte Zeit zugebracht hat, wird er herausgenommen, 15 Sekunden lang mit 0,8-proz. Natriumchloridlösung abgespült und danach in ein Reagensglas mit Bouillon geworfen, welches bei 37° während 3—4 Tage in den Brutofen gestellt und danach auf das Wachstum hin untersucht

wird. Die Versuchstemperatur betrug 20°. Alle zu den Versuchen angewandten Gegenstände waren natürlich sterilisiert. Zu jedem einzelnen Granate wird ein neues Glas mit Desinfektionsflüssigkeit und ein neues Glas mit steriler Chlornatriumlösung angewandt, so daß jeder einzelne Granatversuch für sich eine Desinfektionsprobe repräsentiert.

Einige der Versuche, die ich gemacht habe, um zu untersuchen, ob die Vernichtungszeit sich mit genügender Genauigkeit bestimmen läßt, sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1.

Versuch I.

Salzsäure. Staph. pyog. aureus. Temp. 20°.

n/200 HCl	n/100 HCl	n/50 HCl	2/10 n HCl
90 Min. + + + +	30 Min. + + + +	20 Min. + + + +	1/4 Min. + + + +
120 „ + + + +	45 „ + + + +	30 „ + + + +	1/2 „ + + + +
150 „ + + + +	60 „ + + + +	45 „ — — — —	1 „ + + + +
180 „ — — — —	90 „ — — — —	60 „ — — — —	2 „ + + + +
240 „ — — — —	120 „ — — — —		3 „ — — — —
	180 „ — — — —		5 „ — — — —

Versuch II.

Salzsäure. Bact. coli. Temp. 20°.

n/200 HCl	n/100 HCl	n/50 HCl
2 Min. + + + +	1/4 Min. + + + +	1/2 Min. + + + +
5 „ + + + +	1/2 „ + + + +	1 „ + + + +
10 „ + + + +	1 „ + + + +	2 „ + + + +
15 „ — — — —	1 1/2 „ — — — —	3 „ — — — —
20 „ — — — —	3 „ — — — —	5 „ — — — —
40 „ — — — —		

Versuch III.

Sublimat. Staph. pyog. aureus. Temp. 20°.

1/40 0/00	1/5 0/00	1 0/00	3 0/00
30 Min. + +	5 Min. + + + +	1 Min. + +	1/4 Min. + +
45 „ + +	6 „ + + + +	2 „ + +	1/2 „ + +
60 „ + —	8 „ + + + +	4 „ — —	3/4 „ — —
90 „ — —	10 „ + + — —	8 „ — —	1 „ — —
120 „ — —	12 „ — — — —	15 „ — —	1 1/2 „ — —
	15 „ — — — —		2 „ — —

Versuch IV.

Phenol. B. prodigiosus. Temp. 20°.

2/10 0/0	5/10 0/0	1 0/0	2 0/0
10 Min. + +	180 Min. + +	1 Min. + +	1/10 Min. + +
15 „ + +	240 „ + +	2 „ + +	1/8 „ + +
20 „ + —	300 „ — —	3 „ + +	1/4 „ — —
30 „ — —	360 „ — —	4 „ — —	1/2 „ — —
40 „ — —		5 „ — —	

In der 1. Kolonne der Tabellen ist die Minutenzahl angegeben, in der jeder Granat in der gegebenen Lösung gelegen hat. In der 2. Kolonne ist ein + oder — bei der angegebenen Zeit angebracht, je nachdem die betreffenden Granaten Wachstum zeigten oder nicht (jedes + oder — repräsentiert einen Granatversuch.)

Betrachtet man die Tabelle von oben nach unten, so sieht man, wann der Zeitpunkt eintrifft, an dem die Einwirkungszeit der Desinfektionsflüssigkeit groß genug geworden ist, um die Granaten zu sterilisieren. Wie aus den Versuchen hervorgeht, ist die Grenze so scharf, daß die Zeit, in welcher alle Granaten steril sind, nie mehr als 100 Proz. größer ist als diejenige Zeit, in welcher alle Granaten die Einwirkung ohne Sterilisation ertragen. Ich versuchte, ob diese Zeitpunkte nicht einander näher gerückt werden könnten; der Uebergang zeigte sich dann aber unsicher. Ich habe mich bei meinen Versuchen deshalb damit begnügt, die aufeinanderfolgenden Desinfektionszeiten (d. h. die Aufenthaltszeit in der Desinfektionsflüssigkeit) in der Weise steigen zu lassen, daß jede Zeit 30 Proz. — höchstens 100 Proz. größer ist als die vorhergehende. Da die Zeit, nach welcher alle Granaten sterilisiert wurden, also höchstens 100 Proz. größer war als diejenige Zeit, in welcher sie alle die Einwirkung vertrugen, wird man, wenn man die Durchschnittszahl zwischen den beiden Zeiten für die „Vernichtungszeit“ annimmt (der Einfachheit halber wird diese Bezeichnung gleich beibehalten), diese mit einem Fehler von höchstens $\frac{1}{3}$ des gefundenen Wertes bestimmen können.

Die Vernichtungszeit ließ sich also in den angeführten Versuchen mit befriedigender Genauigkeit feststellen. Versuche mit Salzsäure ergaben gegenüber einer Reihe verschiedener anderer Bakterien (*Staphylococcus pyogenes albus*, 3 Streptokokkenstämme, 2 Typhusstämme, 3 Paratyphusstämme, 1 *Prodigiosus*, 3 *Proteus*-Stämme, 2 *B. enteriditis* Gärtner, 1 Coli-Stamm) das gleiche Resultat. Ferner fand ich auch dasselbe Resultat beim *Staphylococcus pyogenes aureus* gegenüber allen den verschiedenen angewandten Antiseptika, wie Lösungen von Sublimat, Formol, Jod-Jodkalium, Phenol, Thymol, Chloralhydrat, Alkohol. Alle diese Versuche (mehrere 100 Versuche derselben Art, wie die in Tabelle 1 angeführten 15 Fälle) zeigten übereinstimmend folgendes: Für eine gegebene Lösung eines gegebenen Antiseptikum kann man gegenüber einer gegebenen Bakterie mit der angegebenen Versuchstechnik die Vernichtungszeit mit befriedigender Genauigkeit (ca. $\frac{1}{3}$ des Wertes) bestimmen. Sobald aber dies außer Zweifel gesetzt ist, ist gleichzeitig festgestellt, daß die Vernichtungszeit oder richtiger der reziproke Wert derselben sich als ein numerischer Ausdruck für die desinfizierende Kraft eines Antiseptikum unter den gegebenen Verhältnissen (Konzentration, Temperatur, Bakterie) anwenden läßt.

Mit der Vernichtungszeit als Maß für die desinfizierende Kraft habe ich eine Reihe von Versuchen über die desinfizierende Kraft einer Reihe verschiedener Desinfizientien bei verschiedenen Konzentrationen angestellt:

Salzsäurelösungen (siehe Tabelle 2—6).

Tabelle 2.

Salzsäure. Staph. pyog. aureus. Temp. 20°.

Konzentration	Gefundene Zeit	Berechnete Zeit	C. T
0,005 normal	150 Min.	150 Min.	0,75
0,01 "	75 "	75 "	0,75
0,02 "	38,5 "	37,5 "	0,75
0,04 "	20 "	19 "	0,80
0,06 "	15 "	12,5 "	0,90
0,1 "	7,5 "	7,5 "	0,75
0,15 "	4 "	5 "	0,60
0,20 "	3 "	3,8 "	0,60
0,3 "	2,5 "	2,5 "	0,75
0,4 "	1,5 "	1,9 "	0,60
1,0 "	0,5 "	0,75 "	0,50

Tabelle 3.

Salzsäure. Staph. pyog. albus. Temp. 20°.

Konzentration	Gefundene Zeit	Berechnete Zeit	C. T
0,0025 normal	90 Min.	90 Min.	0,23
0,005 "	48 "	45 "	0,24
0,010 "	30 "	22,5 "	0,30
0,02 "	17,5 "	11 "	0,35
0,04 "	7,5 "	5,6 "	0,30
0,06 "	4,5 "	3,8 "	0,27
0,1 "	2,5 "	2,3 "	0,25
0,2 "	1,8 "	1,1 "	0,35
0,5 "	0,5 "	0,45 "	0,25

Tabelle 4.

Salzsäure. Bact. coli. Temp. 20°.

Konzentration	Gefundene Zeit	Berechnete Zeit	C. T
0,00125 normal	55 Min.	55 Min.	0,069
0,0025 "	30 "	27,5 "	0,075
0,005 "	12,5 "	13,8 "	0,063
0,01 "	5,5 "	6,9 "	0,055
0,02 "	2,5 "	3,4 "	0,050
0,04 "	1,25 "	1,7 "	0,050

Tabelle 5.

Salzsäure. Bact. prodigiosum. Temp. 20°.

Konzentration	Gefundene Zeit	Berechnete Zeit	C. T
0,0025 normal	5 Min.	5 Min.	0,0125
0,005 "	3 "	2,5 "	0,015
0,01 "	1,5 "	1,25 "	0,015
0,02 "	0,63 "	0,63 "	0,0125
0,05 "	0,31 "	0,25 "	0,015

Tabelle 6.
Salzsäure. *B. typhosus*. Temp. 20°.

Konzentration	Gefundene Zeit	Berechnete Zeit	C. T
0,0025 normal	6 Min.	6 Min.	0,015
0,005 "	3 "	3 "	0,015
0,01 "	1,25 "	1,5 "	0,0125
0,02 "	0,5 "	0,75 "	0,010
0,04 "	0,3 "	0,37 "	0,012

Tabelle 2 zeigt die den verschiedenen Konzentrationen entsprechende Vernichtungszeit gegenüber dem *Staphylococcus pyogenes aureus*, welchen ich vorzugsweise zu meinen Versuchen benützt habe, da er wohl als die resistanteste der gewöhnlich vorkommenden, nicht-sporenbildenden Bakterien betrachtet werden muß. Durch Vergleich der Vernichtungszeit zwischen den verschiedenen Konzentrationen ersieht man, daß Vernichtungszeit und Konzentration beinahe umgekehrt proportional zueinander stehen. In der 3. Kolonne der Tabelle 2 ist ausgerechnet worden, wie groß die Vernichtungszeit für jede Konzentration sein sollte, wenn die Vernichtungszeit (150 Minuten) für die schwächste Konzentration ($\frac{1}{200}$ normal HCl) der Berechnung der anderen Vernichtungszeit zugrunde gelegt wird, und zwar unter der Voraussetzung, daß die Vernichtungszeit der Konzentration genau umgekehrt proportional war.

Wie man sieht, stimmen die Zahlen in der 2. Kolonne (die den gefundenen Wert angibt) mit denjenigen in der 3. Kolonne (die den berechneten Wert bezeichnet) vorzüglich überein. Das Produkt der Zeit (T) und Konzentration (C), welches, wenn die Zeit und die Konzentration umgekehrt proportional sind, in allen Fällen gleich sein sollte $C.T = k$ (konstant), ist in der 4. Kolonne angeführt und ergibt ungefähr denselben Wert (k) bei den verschiedenen Konzentrationen. Da der reziproke Wert der Vernichtungszeit einen Ausdruck für die desinfizierende Kraft bildet, ist also die desinfizierende Kraft der Salzsäurelösungen von verschiedenen Konzentrationen ungefähr der Konzentration einfach proportional. Dieses einfache Gesetz (welches, soweit mir bekannt, früher für kein Antiseptikum nachgewiesen worden ist) galt auch gegenüber allen den anderen oben erwähnten untersuchten Bakterien. Für den *Prodigiosus* siehe Tabelle 5, für *Staphylococcus pyogenes albus* Tabelle 3, für *Coli* Tabelle 4, für Typhus Tabelle 6.

Für einen anderen Stamm des *Staphylococcus pyogenes aureus* wurde gleichzeitig (siehe Tabelle 7) untersucht, wie sich das Verhältnis bei einer anderen Temperatur (37°) stellte. Die Vernichtungszeit war bei dieser Temperatur bedeutend kürzer als bei 20° (3—4mal), jedoch war dasselbe gegenseitige Verhältnis zwischen Vernichtungszeit und Konzentration vorhanden, indem $C.T = k$ war.

Man kann deshalb auch mit Berechtigung den Schluß ziehen, daß die desinfizierende Kraft von wässerigen Lösungen der Salzsäure der Konzentration der Lösungen einfach proportional ist.

Gilt der gefundene einfache, gesetzmäßige Zusammenhang zwischen Konzentration und desinfizierender Kraft auch für andere Stoffe?

Ich habe versucht, diese Frage zu beantworten, indem ich Versuche mit einer Reihe anderer Desinfizientien gemacht habe.

Zu allen folgenden Versuchen habe ich den gleichen Stamm von *Staphylococcus pyogenes aureus*, aus einem Abszeß rein ge-

Tabelle 7.

Salzsäure. *Staph. pyog. aureus*. Versuch bei Temp. 20° und 37°.

Konzentration	Bei 20°		Bei 37°	
	Zeit	C. T.	Zeit	C. T.
0,003 normal	140 Min.	0,420	40 Min.	0,120
0,005 "	110 "	0,55	25 "	0,125
0,007 "	65 "	0,45	16 "	0,112
0,01 "	50 "	0,50	15 "	0,150
0,015 "	28 "	0,42	7 "	0,105
0,02 "	25 "	0,50	7 "	0,140
0,03 "	15 "	0,45	4,5 "	0,135

züchtet, angewandt. Nur zu den Versuchen in Tabelle 6 wurde ein anderer Stamm gebraucht (von einer Acne reingezüchtet). Ihre Resistenz erwies sich — wie aus Tabelle 7 hervorgeht — nur als wenig verschieden von derjenigen des anderen Stammes.

Zu allen den im folgenden angeführten Versuchen, die sich über ein halbes Jahr erstreckt haben, sind natürlich zahlreiche verschiedene Portionen von Granaten, dargestellt aus neuen Kulturen des ursprünglichen Stammes, angewandt worden. Innerhalb jeder einzelnen Versuchsreihe (welche alle Versuche jeder einzelnen Tabelle repräsentieren), wurden jedoch immer nur Granaten angewendet, die mit derselben Bakterienemulsion überzogen waren. Die Versuche erstreckten sich dann nur über 1—2 Tage, innerhalb welcher Zeit konstatiert wurde, daß die Resistenz der Bakterien sich nicht verändert hatte.

Für jede neue Portion Granaten (von einer neuen Bakterienemulsion des ursprünglichen Stammes dargestellt) wurde die Vernichtungszeit immer gegenüber der gleichen Salzsäurelösung bestimmt. Es war möglich — durch Anwendung genau desselben Verfahrens — stets neue Granaten darzustellen, deren Bakterien die gleiche Widerstandskraft wie die ursprünglichen (in Tabelle 2 angewandten) hatten. Der Unterschied lag innerhalb der Grenze der Versuchsfehler, so daß alle späteren Versuche direkt verglichen werden können.

Sublimat. Mein Verfahren wich hier in einem Punkte von der Technik ab, die Krönig und Paul, Madsen und Nyman, H. Chick u. a. angewendet haben. Nachdem die Granaten in meinen Versuchen sich in der Sublimatlösung aufgehalten hatten, wurden sie von dem restierenden Sublimat nur durch einfaches Spülen in steriler Natriumchloridlösung befreit, bevor sie in das Bouillonglas gelegt wurden. Die genannten Verfasser behandeln die Granaten mit Schwefelammonium, wobei man auch das z. B. an die Albuminstoffe der Bakterien gebundene Quecksilber als unwirksames Schwefelquecksilber ausfällt. Mir scheint es zweifelhaft zu sein, ob es das Richtige ist, das an die Bakterien gebundene Quecksilber auf die genannte Art zu „entfernen“. Jedenfalls ging aus Chicks Versuchen hervor, daß eine Nachbehandlung mit

Schwefelwasserstoff Resultate gab, die zeigten, daß auf die Art noch mehr Quecksilber entfernt wird als durch Hinzusetzen von Schwefelammonium, und daß deshalb die Schwefelammoniumbehandlung keineswegs ein vollständiges Unschädlichmachen alles zurückgebliebenen Quecksilbers bedeutet. Nachdem ich mich durch Versuche davon überzeugt hatte, daß die Sublimatmenge, die nach einfacher Abspülung der Granaten auf diesen zurückbleibt, so gering ist, daß selbst die 10-fache Menge der Bouillon zugesetzt nicht imstande ist, Wachstum zu verhindern, unterließ ich die Behandlung mit Schwefelammonium, weil es mir scheint, daß man durch einfaches Abspülen der praktischen Desinfektion am nächsten kommt.

Ich untersuchte im ganzen 11 verschiedene Konzentrationen von Sublimat mit Konzentrationen zwischen $\frac{1}{80}$ —5 ‰.

Wie aus Tabelle 8 hervorgeht, ist auch hier der gleiche gesetzmäßige Zusammenhang zwischen Konzentration und Vernichtungszeit,

Tabelle 8.
Sublimat. Staph. pyog. aureus. Temp. 20°.

Konzentration	Gefundene Zeit	Berechnete Zeit	C. T
0,0125 ‰	150 Min.	150 Min.	1,9
0,025 "	68 "	75 "	1,7
0,05 "	45 "	38 "	2,3
0,1 "	23 "	19 "	2,3
0,2 "	10 "	9 "	2,0
0,33 "	7 "	5,5 "	2,3
0,5 "	5 "	3,75 "	2,5
1,0 "	3 "	1,9 "	3,0
2,0 "	1,5 "	0,9 "	3,0
3,0 "	0,63 "	0,63 "	1,9
5,0 "	0,63 "	0,38 "	3,1

wie wir ihn bei den Versuchen mit Salzsäure sahen, zu finden. Innerhalb der untersuchten Konzentrationen ($\frac{1}{80}$ —5 ‰) wich Produkt von Konzentration und Vernichtungszeit nur wenig voneinander ab. Also auch hier finden wir, daß die desinfizierende Kraft der Konzentration fast einfach proportional ist, also $C \cdot T = k$ (Konstante).

H. Chick (l. c.) fand bei seinen Untersuchungen, daß das Verhältnis für Sublimatlösungen zwischen Vernichtungszeit und Konzentration durch die Gleichung

$$\frac{1}{t_n - t_0} \log \frac{C_n t_n}{C_0 t_0} = k \quad (C \text{ ist Konzentration, } t \text{ Vernichtungszeit})$$

ausgedrückt werden kann, also ein ganz anderes Resultat ist als das, zu welchem ich gelangt bin.

Krönig und Paul haben einen Versuch gemacht, in dem die Vernichtungszeit für 3 verschiedene Sublimatlösungen gefunden ist, nämlich: 1,69 Proz. in 13 Minuten, 0,84 Proz. in 28 Minuten, 0,21 Proz. in 85 Minuten. Krönig und Paul haben selbst nicht in betreff der Konzentration und Vernichtungszeit einen Schluß aus diesem Versuch gezogen. Wie zu sehen ist, stimmt dieser Versuch gut mit meinen Resultaten überein, da auch hier die desinfizierende Kraft der Konzentration einfach proportional ist.

Wenn Madsen und Nyman auf die beschriebene Weise das K für Krönigs und Pauls Sublimatversuche ausrechneten, fanden sie hierdurch Werte, die proportional, obgleich nicht ganz einfach proportional der Konzentration sind.

Andere systematische Untersuchungen über die Vernichtungszeit durch verschiedene Sublimatkonzentrationen habe ich in der Literatur nicht finden können.

Jod-Jodkaliumlösungen (s. Tabelle 9). Ich gebrauchte wässrige Lösungen von 1 Teil Jod + 2 Teilen Jodkalium, und untersuchte

Tabelle 9.

Lösungen von J-JK (1 J + 2 JK). Staph. pyog. aureus. Temp. 20°.

Konzentration	Gefundene Zeit	Berechnete Zeit	C. T
0,00033 %	300 Min.	300 Min.	0,100
0,0005 "	180 "	200 "	0,090
0,00067 "	150 "	150 "	0,100
0,001 "	68 "	100 "	0,068
0,00167 "	68 "	60 "	0,113
0,0025 "	45 "	40 "	0,113
0,005 "	25 "	20 "	0,125
0,01 "	7,5 "	10 "	0,075
0,02 "	5 "	5 "	0,100
0,033 "	2 "	3 "	0,067
0,1 "	1,25 "	1 "	0,125
0,2 "	0,63 "	0,5 "	0,125
0,33 "	0,19 "	0,30 "	0,063
1,0 "	0,08 "	0,10 "	0,83

im ganzen 14 verschiedene Lösungen, deren Konzentration zwischen $\frac{1}{3000}$ —1 Proz. liegt, und fand dasselbe Verhältnis, wie wir es bei Sublimat und Salzsäure sahen; die desinfizierende Kraft ist der Konzentration einfach proportional.

Formaldehyd. Es wurden wässrige Formaldehydlösungen angewandt. Die Resultate sind in Tabelle 10 zu finden.

Tabelle 10.

Wässrige Formaldehydlösungen. Staph. pyog. aureus. Temp. 20°.

Konzentration	Gefundene Zeit	Berechnete Zeit	C. T
$\frac{1}{8}$ %	240 Min.	240 Min.	40
$\frac{1}{4}$ "	220 "	160 "	55
$\frac{1}{3}$ "	180 "	120 "	60
$\frac{1}{2}$ "	90 "	80 "	45
$\frac{3}{4}$ "	53 "	53 "	40
1 "	60 "	40 "	60
$1\frac{1}{2}$ "	38 "	27 "	57
2 "	18 "	20 "	36
3 "	19 "	13 "	57
5 "	6 "	8 "	30
$7\frac{1}{2}$ "	$4\frac{1}{2}$ "	$5\frac{1}{2}$ "	34
10 "	3 "	4 "	30
20 "	$1\frac{1}{4}$ "	2 "	25
40 "	$\frac{5}{8}$ "	1 "	25

Auch hier gilt im großen und ganzen dasselbe wie für Salzsäure, Jod und Sublimat, obgleich die Produkte (s. die 4. Kolonne) von Konzentration und Vernichtungszeit etwas mehr schwanken als bei anderen Versuchen, die wir sahen.

Die desinfizierende Kraft von wässerigen Lösungen von Salzsäure, Sublimat, Jod in Jodkalium und Formaldehyd ist also der Konzentration beinahe einfach proportional.

Ich ging darauf zu den Untersuchungen der Phenollösungen über. Es zeigte sich gleich bei den orientierenden Versuchen, daß das Verhältnis zwischen Vernichtungszeit und Konzentration, welches bei den obengenannten Stoffen gefunden wurde, hier nicht nachzuweisen war.

Es wurden im ganzen 11 verschiedene Konzentrationen untersucht (zwischen $\frac{1}{2}$ und 3 Proz. Phenol). Das Resultat ist in Tabelle 11 zu sehen.

Tabelle 11.

Wässerige Phenollösungen. Staph. pyog. aureus. Temp. 20°.

Konzentration	Gefundene Zeit	Berechnete Zeit	C ⁴ . T
0,5 %	300 Min.	300 Min.	18,8
0,625 "	90 "	123 "	13,7
0,75 "	75 "	59 "	23,7
0,875 "	30 "	32 "	17,6
1,0 "	20 "	18,8 "	20,0
1,25 "	8 "	7,7 "	19,5
1,5 "	3 "	3,7 "	15,2
1,75 "	1 $\frac{1}{2}$ "	2,0 "	14,1
2,0 "	1 "	1,2 "	16,0
2,5 "	$\frac{3}{8}$ "	$\frac{1}{2}$ "	14,6
3,0 "	$\frac{3}{16}$ "	$\frac{1}{4}$ "	15,2
			durchschnittlich 17,1

Bei genauerer Betrachtung der Zahlen für die Vernichtungszeit sieht man, daß sie der 4. Potenz der Konzentration fast umgekehrt proportional sind.

Wenn die Konzentration verdoppelt wird, dann wird die Vernichtungszeit $2^4 = 16$ mal kleiner und die desinfizierende Kraft also 16mal größer. Wenn z. B. die Vernichtungszeit von 300 Minuten für die schwächste Konzentration ($\frac{1}{2}$ Proz.) der Berechnung zugrunde gelegt wird, sollten die Vernichtungszeiten, wenn sie der Konzentration in der 4. Potenz genau umgekehrt proportional waren, die Werte erhalten, welche in der 3. Kolonne angeführt sind. Man sieht, daß sie so gut mit den wirklich gefundenen Vernichtungszeiten, die in der 2. Kolonne angeführt sind, übereinstimmen, daß die Abweichung innerhalb der möglichen Versuchsfehler liegen muß. Dementsprechend ist das Produkt der Konzentration in 4. Potenz und die Vernichtungszeit konstant (s. 4. Kolonne) $C^4 \cdot T = K$.

Die desinfizierende Kraft der wässerigen Phenollösungen läuft also mit der 4. Potenz der Konzentration einfach proportional.

Das Resultat wurde durch den Versuch mit *Prodigiosus* bekräftigt (Tabelle 12).

Für noch 2 weitere Stoffe fand ich das gleiche Verhältnis wie beim Phenol, nämlich bei Thymol und Chloralhydrat.

Tabelle 12.
Phenollösungen. *Bact. prodigiosum*. Temp. 20°.

Konzentration	Gefundene Zeit	Berechnete Zeit	C · T
0,3125 %	300 Min.	300 Min.	2,9
0,375 "	135 "	145 "	2,7
0,4375 "	90 "	78 "	3,3
0,5 "	68 "	46 "	4,3
0,5625 "	43 "	29 "	4,3
0,625 "	25 "	19 "	3,8
0,75 "	10 "	9 "	3,2
1,0 "	3,5 "	2,9 "	3,5
1,5 "	0,63 "	0,57 "	3,2
2,0 "	0,19 "	0,18 "	3,0
			durchschnittlich 3,4

Tabelle 13 enthält die Thymolversuche¹⁾.

Tabelle 13.
Wässrige Thymollösungen. (Die gesättigte Lösung [$\frac{1}{11}$ %] wird als Konzentration 1,0 bezeichnet; die verschiedenen Verdünnungen im Verhältnis hierzu.) *Staph. pyog. aureus*. Temp. 20°.

Konzentration	Gefundene Zeit	Berechnete Zeit	C · T
0,28 %	300 Min.	300 Min.	1,84
0,30 "	210 "	228 "	1,70
0,325 "	150 "	165 "	1,67
0,35 "	135 "	123 "	2,03
0,375 "	80 "	93 "	1,58
0,40 "	90 "	72 "	2,30
0,425 "	55 "	57 "	1,80
0,45 "	60 "	45 "	2,46
0,475 "	40 "	36 "	2,04
0,50 "	27 "	30 "	1,69
0,55 "	20 "	20 "	1,83
0,60 "	18 "	14 "	2,34
0,65 "	12 "	10 "	2,14
0,70 "	9 "	7,7 "	2,16
0,75 "	5 "	5,8 "	1,58
0,80 "	5 "	4,5 "	2,05
0,85 "	3,5 "	3,5 "	1,83
0,90 "	3 "	2,8 "	1,97
0,95 "	3 "	2,3 "	2,44
1,00 "	2,5 "	1,8 "	2,50

1) Die gesättigte Thymollösung ($\frac{1}{11}$ -proz.) war in diesen Versuchen stark desinfizierend; sie vernichtete *Staphylococcus pyogenes aureus* gerade so schnell wie $\frac{1}{2}$ % Sublimat oder $\frac{1}{10}$ -proz. Phenol. Dies ist eine im Verhältnis zur Ungiftigkeit einer solchen Thymollösung erstaunlich große desinfizierende Kraft, wenn man bedenkt, daß 1000 g einer solchen Lösung nicht so viel Thymol enthalten, wie man ohne Giftwirkung per os eingegeben hat.

Es wurden im ganzen 20 verschiedene Thymolkonzentrationen untersucht. (Als Konzentration 1 wird die gesättigte Thymollösung bezeichnet = $\frac{1}{11}$ -proz., dementsprechend wird als Konzentration 0,5 eine halb so starke Lösung bezeichnet usw.).

Tabelle 14 enthält die Versuche mit Chloralhydrat. Es wurden 17 Lösungen mit verschiedener Konzentration untersucht.

Tabelle 14.

Wässrige Lösungen von Chloralhydrat ($\text{CCl}_3\text{CH}(\text{OH})_2$). Staph. pyog. aureus.
Temp. 20°.

Konzentration	Gefundene Zeit	Berechnete Zeit	$C^4 \cdot T$
2,6 %	270 Min.	270 Min.	12 340
2,8 "	180 "	201 "	11 070
3,0 "	150 "	152 "	12 150
3,2 "	105 "	118 "	11 020
3,5 "	90 "	82 "	13 510
4,0 "	52,5 "	48 "	13 450
4,5 "	38 "	30 "	15 580
5,0 "	22,5 "	20 "	14 070
5,5 "	14 "	13,5 "	12 810
6,0 "	6 "	9,5 "	7 780
7,0 "	3,5 "	5 "	8 405
8,0 "	1,75 "	3 "	7 168
9,0 "	1,25 "	1,9 "	8 206
10,0 "	1,0 "	1,2 "	10 000
12,0 "	$\frac{3}{8}$ "	$\frac{3}{5}$ "	7 777
15,0 "	$\frac{5}{32}$ "	$\frac{1}{4}$ "	7 914
20,0 "	$\frac{3}{32}$ "	$\frac{3}{40}$ "	15 040

Die Thymol- und Chloralhydratversuche zeigen, in Uebereinstimmung mit den Phenolversuchen, daß die desinfizierende Kraft der Konzentration in 4. Potenz sehr nahe einfach proportional ist $C^4 \cdot T = K$ (Konstante).

Reichel (l. c.) fand ein ähnliches Verhältnis bei Phenol, wie ich es gefunden habe, indem $T(C-a)^4 = K$, wo T Vernichtungszeit, C Konzentration bedeutet. Reichel zieht von der Konzentration den Wert ab, welches derjenige Grenzwert der Konzentration ist, bei welchem Phenol ebenso unwirksam ist (a war im Versuch 0,23 Proz.).

H. Chick fand dagegen, daß sowohl Konzentration wie Vernichtungszeit sich bei Phenol ebenso verhalten wie bei Sublimat, der oben (p. 177) zitierten Gleichung entsprechend.

Ich habe noch die Wirkung des Alkohols (Aethylalkohol) zu verschiedenen Konzentrationen untersucht, um zu sehen, ob sich hier ähnliche Verhältnisse aufstellen lassen, wie für die oben erwähnten Verbindungen.

Es liegt ein Teil solcher Untersuchungen vor. Minervini (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 29. 1898.) wies z. B. nach, daß Alkohollösungen zwischen 50 und 80 Proz. stark antiseptisch wirken, während sowohl stärkere wie schwächere Lösungen von Alkohol keine antiseptische Kraft besitzen.

Beyer (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 70. 1912. p. 225) untersuchte systematisch eine Reihe verschiedener Alkoholkonzentrationen und fand, daß 70 Proz. die am stärksten desinfizierende Konzentration ist, und daß die desinfizierende Kraft von hier an, sowohl bei höheren wie bei niedrigeren Konzentrationen, schnell abnimmt.

Meine Untersuchungen (s. Tabelle 15) mit *Staphylococcus pyogenes aureus*) stimmen im ganzen mit den früheren Untersuchungen

Tabelle 15.

Wässrige Alkohollösungen. *Staph. pyog. aureus*. Temp. 20°.

Konzentration (Gewichtsprozent)	Vernichtungs- zeit	Konzentration (Gewichtsprozent)	Vernichtungs- zeit
30 %	300 Min.	60 %	1,5 Min.
32,5 "	300 "	70 "	0,75 "
35 "	180 "	75 "	0,63 "
37,5 "	90 "	80 "	2 "
40 "	37 "	85 "	5 "
42,5 "	25 "	90 "	22 "
45 "	16 "	95 "	270 "
47,5 "	7,5 "	99 "	zwischen 2—7 Tagen
50 "	5 "	100 "	mehr als 7 Tage

überein. 70—75 Proz. (Gewichtsprozent) Alkohol wirken am stärksten desinfizierend (töten den angewandten Stamm von *Staphylococcus pyogenes aureus* beinahe ebenso schnell wie 3‰ Sublimat oder 2 Proz. Phenol). Die desinfizierende Kraft nimmt sowohl bei steigender wie bei fallender Konzentration schnell ab. 95 Proz. wirken ungefähr wie 30 Proz., 99 Proz. wirken gar nicht desinfizierend. Wasserfreier Alkohol wirkt geradezu konservierend auf *Staphylococcus pyogenes aureus*; dieser verträgt die Aufbewahrung besser in demselben als in physiologischer Kochsalzlösung.

Es ist mir rein unmöglich gewesen, einen einfachen Ausdruck für das Verhältnis zwischen der desinfizierenden Kraft und der Konzentration der Alkohollösungen zu finden. Das Verhältnis war hier natürlich sehr kompliziert. Ueber die Ursache des für andere Antiseptika unbekannten Verhältnisses, daß nämlich die stärkste Konzentration so schwach wirkt, sind verschiedene Hypothesen aufgestellt worden. Die wahrscheinlichste (Beyer, l. c.) ist wohl die, daß Alkohol nicht in das Protoplasma der Bakterien eindringen kann, wenn kein Wasser vorhanden ist, in welchem der Alkohol aufgelöst werden kann, indem der Alkohol ja nicht in wasserfreiem Protoplasma löslich ist. Die sehr starken Alkoholkonzentrationen wirken stark wassersaugend, wässern deshalb das Protoplasma der Bakterien ab und verhindern dadurch das Eindringen des Alkohols, und dieser kann infolgedessen keine tödende Wirkung besitzen.

Bei meinen Versuchen habe ich also gezeigt, daß chemisch so weit verschiedene Stoffe, wie Salzsäure, Sublimat, Jod-Jodkalium und Formaldehyd, in wässrigen Lösungen im Verlauf einer Zeit, die der Konzentration umgekehrt proportional ist, eine gegebene Bakterienmenge vernichten: $C \cdot T = K$ (Konstante).

Ein solcher gesetzmäßiger Zusammenhang zwischen den verschiedenen

Zeiten, in welchen ein Prozeß durch Einwirkung verschiedener Konzentrationen desselben Stoffes beendet wird, ist ein in der Chemie für eine Reihe verschiedener Prozesse wohl bekanntes Phänomen. So ist z. B. diejenige Zeit, in welcher eine gegebene Menge Rohrzucker invertiert wird (zu Traubenzucker), und zwar durch Einwirkung einer Reihe verschiedener Konzentrationen derselben Säure, der Konzentration der Säure umgekehrt proportional.

Die Enzymuntersuchungen (in Dänemark von Madsen und Walbum und S. P. L. Sørensen) haben gezeigt, daß die Zeit, welche für eine Reihe von Lösungen desselben Fermentes zum Hervorrufen desselben Wirkungsgrades draufgeht, der Konzentration der Fermentlösung umgekehrt proportional ist.

Warum ist ferner in Beziehung zum Verhältnis zwischen Konzentration und desinfizierender Kraft ein solcher Unterschied zwischen Salzsäure, Jod, Formaldehyd und Quecksilber auf der einen, und Phenol, Thymol, Chloralhydrat auf der anderen Seite? Es ist mir nicht möglich, eine Ursache für diesen Unterschied zu finden. Es ist indessen ein auffallender Unterschied zwischen der Wirkung der beiden Gruppen gegenüber den organischen Stoffen.

Die 4 erstgenannten Stoffe sind gegenüber den organischen Stoffen des Organismus, mit denen sie in Verbindung treten, sehr reaktionswillig, zum Teil wirken sie destruierend; Salzsäure bildet Acidalbuminate, Sublimat Quecksilberalbuminate, Jod und Formaldehyd treten ebenfalls mit organischen Stoffen in Verbindung und wirken gleichzeitig beziehungsweise oxydierend und reduzierend.

Phenol, Thymol und Chloralhydrat haben nicht dieselbe Affinität zu den organischen Stoffen, destruieren sie auch nicht. Möglicherweise beruht deshalb die desinfizierende Wirkung bei den letztgenannten Stoffen auf ganz anderen Prozessen, für welche vielleicht das gefundene Verhältnis, daß nämlich Zeit und Konzentration in der 4. Potenz umgekehrt proportional sind, charakteristisch ist.

Es soll an dieser Stelle erwähnt werden, daß Paul, Bierstein und Reuz (l. c.) durch (nach Madsen und Nyman) Bestimmung des K während des Versuches mit Desinfektion von Sauerstoff fanden, daß die Werte des K sich wie die Quadratwurzel der Konzentration des Sauerstoffes verhalten.

Es würde ein großer Fortschritt für das Studium der Desinfektion sowohl auf theoretischem wie auf praktischem Gebiete sein, wenn sich ein solches konstantes Verhältnis zwischen Vernichtungszeit und Konzentration in betreff der verschiedenen Desinfizientien nachweisen ließe, und zwar eine Gleichung der Art, wie sie für die oben genannten Desinfizientien $T \cdot C^n = K$ gefunden wurde. Wenn dann K, das man die Desinfektionskonstante nennen könnte, bekannt ist, würde man imstande sein, die Vernichtungszeit und dadurch die desinfizierende Kraft des Stoffes (bei der gegebenen Temperatur und der gegebenen Bakterienemulsion) zu finden. Durch Untersuchung der Veränderungen der Konstante würde man, wie z. B. durch verschiedene Temperaturen, ein Maß für die Einflüsse dieser verschiedenen Verhältnisse auf die desinfizierende Kraft erhalten.

Auch zum Vergleiche zwischen der desinfizierenden Kraft der verschiedenen Desinfizientien (natürlich gegenüber der gleichen Bakterien-

emulsion) würde man für die Desinfektionskonstante Verwendung finden können.

Bei solchen Vergleichen hat man gewöhnlich Rideals und Walkers Methode benutzt. Beim betreffenden Stoffe wird diejenige Konzentration bestimmt, die dieselbe Bakterienmenge in derselben Zeit zerstört, wie eine gegebene Konzentration des Phenols. Das Verhältnis zwischen den beiden Konzentrationen wurde als Karbolsäurekoeffizient des betreffenden Stoffes bezeichnet. Daß dieser Koeffizient ein schlechtes Maß ist, zeigt ein einfaches Beispiel aus meinen Versuchen.

2‰ Sublimat und 17,5‰ Phenol töten alle beide den *Staphylococcus pyogenes aureus* nach Verlauf von $1\frac{1}{2}$ Minuten. Der Karbolsäurekoeffizient für Sublimat wird dann ca. $\frac{2}{17}$. $\frac{1}{4}$ ‰ Sublimat und 7,5‰ Phenol vernichten, aber auch in ungefähr derselben Zeit, hierauf berechnet, wird der Koeffizient $\frac{\frac{1}{40}}{7,5} = \frac{1}{300}$, also ca. 35mal kleiner.

Der Karbolsäurekoeffizient bekommt also, wenn er für jede Konzentration der Sublimatlösung ausgerechnet ist, einen ganz verschiedenen Wert; weil man den Karbolsäurekoeffizienten einer Sublimatlösung kennt, ist einem deshalb doch nichts über die Größe des Koeffizienten bei einer anderen Mischung bekannt. Wenn man jedoch die Verhältnisse zwischen der Desinfektionskonstante ($K = C^n t$) kennt, wird man auch gleichzeitig das Verhältnis zwischen der desinfizierenden Kraft zweier beliebiger Konzentrationen der beiden desinfizierenden Stoffe kennen. Die Desinfektionskonstante muß dann natürlich in allen Fällen solcherweise ausgerechnet werden, daß man für die Konzentration in allen Fällen denselben Ausdruck gebraucht; welchen Ausdruck man benutzt, ist natürlich gleichgültig, wenn es nur überall der gleiche ist (z. B. Gewichtsprozent).

Auch als einen Ausdruck für die verschiedene desinfizierende Kraft eines Desinficiens gegenüber verschiedenen Bakterienemulsionen wird man das Verhältnis zwischen den verschiedenen Werten des K gegenüber verschiedenen Bakterien anwenden können. Beispiel: K (Desinfektionskonstante) bei Salzsäure gegenüber *Staphylococcus pyogenes aureus* (s. Tabelle 2) ist 0,70; für *Prodigiosus* ist $K = 0,014$ (s. Tabelle 5). Die angewandte Emulsion von *Staph. pyog. aureus* ist also 50mal so resistent gegenüber Salzsäure, wie die von *Prodigiosus*. Bei Phenol ist K gegenüber *Staphylococcus pyogenes aureus* = 17,0, gegenüber *Prodigiosus* = 3,4. Gegenüber Phenol ist *Staph. pyogenes aureus* also nur 5mal so resistent, wie *Prodigiosus*.

Es ist zum großen Teil unbekannt, von welcher Natur diejenigen Prozesse sind, die bewirken, daß die Bakterien durch die Einwirkung der verschiedenen Antiseptika getötet werden. Ein Weg, der uns hierüber zur Klarheit verhelfen kann, ist der, Gleichheitspunkte zwischen dem Verlauf dieser Prozesse und den bekannten chemischen und physischen Prozessen zu finden. Meine Untersuchungen sind ein Versuch in dieser Richtung, indem ich es mir angelegen sein ließ, für eine Reihe Antiseptika einen gesetzmäßigen Zusammenhang zwischen der Schnelligkeit des Des-

infektionsprozesses und der Konzentration der desinfizierenden Stoffe zu finden.

Zusammenfassung.

Der reziproke Wert derjenigen Zeit, in welcher ein Antiseptikum eine gegebene Bakterie tötet, läßt sich als ein Maß für die desinfizierende Kraft des Stoffes unter den gegebenen Verhältnissen (Konzentration, Temperatur) anwenden. Diese Zeit läßt sich mit einer Genauigkeit von ca. $\frac{1}{3}$ des gefundenen Wertes bestimmen.

Für eine Reihe Antiseptika in wässriger Lösung (Salzsäure, Sublimat, Jod-Jodkalium, Formaldehyd) ist die desinfizierende Kraft der Konzentration einfach proportional (das Produkt von Vernichtungszeit und Konzentration ist für jeden einzelnen Stoff konstant).

Für wässrige Lösungen von Phenol, Thymol, Chloralhydrat ist die desinfizierende Kraft der 4. Potenz der Konzentration einfach proportional.

Bei Stoffen, für welche ein solches konstantes Produkt von Vernichtungszeit und einer Potenz von Konzentration sich nachweisen läßt ($C^n \cdot T = K$), wird diese Konstante („Desinfektionskonstante“) als ein Ausdruck für die desinfizierende Kraft des Stoffes gebraucht werden können. Wenn man diese Desinfektionskonstante kennt, wird man die desinfizierende Kraft jeder beliebigen Konzentration des gegebenen Stoffes (bei der gegebenen Temperatur, gegenüber der gegebenen Bakterie) ausrechnen können.

Zum Vergleich zwischen der desinfizierenden Kraft der verschiedenen Desinfizientien kann das Verhältnis zwischen den reziproken Werten ihrer Desinfektionskonstanten gleichfalls angewandt werden.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Serodiagnostik des Fleckfiebers.

[Aus der serologischen Abteilung (Professor Dr. R. Otto) des Kgl. Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ in Berlin. Stellvertr. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Neufeld.]

Von Dr. **Papamarku**, Assistenten am Institut.

Wenngleich eine ausgesprochene Fleckfiebererkrankung, besonders nach dem Ausbruch des Exanthems, eine Reihe charakteristischer und die Diagnose sichernder Krankheitserscheinungen bietet, so können doch häufig im Anfangsstadium der Krankheit oder beim Fehlen des Exanthems recht große diagnostische Schwierigkeiten vorhanden sein. Man hat daher die verschiedensten Hilfsmittel zur Diagnose herangezogen und zu diesem Zwecke auch die Komplementablenkungsmethode (nach Art der Wassermannschen Reaktion bei der Syphilis) beim Fleckfieber versucht.

Der erste, welcher über derartige Versuche berichtet hat, ist Cathoire. Er hat bei seinen Versuchen frisches, aktives Krankenserum (ohne Komplement- und Amboceptor-Zusatz) und als Antigen einen alkoholischen Extrakt aus der Milz einer am 15. Tage der Infektion verstorbenen Person benutzt. Die Versuchsanordnung entsprach also der von Hecht benutzten Modifikation der Wassermannschen Reaktion. Unter 15 von Cathoire untersuchten Blutseris Fleckfieberkranker reagierten 7, bzw. 8 positiv, je nachdem er 0,1 oder 0,2 ccm Extrakt als Antigen verwandte. Die Kranken befanden sich meist um den 10. Krankheitstag.

Später hat dann Markus Rabinowitsch die Komplementablenkungsreaktion zu diagnostischen Zwecken beim Fleckfieber verwandt. Er benutzte als Antigen einen wäßrigen Extrakt aus Kulturen des von ihm als Erreger des Fleckfiebers angesehenen *Diplococcus exanthematicus*. Zur Herstellung des Antigens nahm er 24-stündige Glyzerin-Serumkulturen, die aus Leichenteilen, bzw. aus Krankenblut gezüchtet waren. Er hat seine Untersuchungen mit 12 inaktivierten Seris angestellt; die Blutproben waren den Patienten teils während der Krankheit, teils 2–12 Tage nach der Entfieberung entnommen. Alle nach dem 6. Tage nach der Entfieberung entnommenen Blutproben ergaben (mit zwei Ausnahmen) ein positives Resultat, aber nur dann, wenn die Kulturen, aus denen die Extrakte gewonnen waren, mehr als 1 und nicht länger als 2 Monate auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet waren.

Weiterhin berichtet dann Paul Th. Müller über Komplementbindungsversuche bei Fleckfieber. Auch Müller arbeitete mit inaktivierten Seris und benutzte als Antigen einerseits Bakterienextrakte (die Kulturen waren von ihm aus Fleckfieberleichen gezüchtet worden) und andererseits auch alkoholische Extrakte, die aus den Organen einer Fleckfieberleiche gewonnen waren. Im ersteren Falle war die Reaktion stets negativ. Bei Verwendung von Organextrakten hatte er ebenfalls negative Resultate oder eine so geringe Verzögerung der Hämolyse, daß

aus ihr keine weiteren Schlüsse zu ziehen waren. Die Zahl der mit Bakterienextrakten untersuchten Sera betrug 9; sie waren 4—14 Tage nach der Entfieberung entnommen; die Zahl der mit Organextrakten untersuchten Sera ist 11.

Arzt und Kerl haben gleichfalls Versuche mit der Komplementablenkung bei Fleckfieber angestellt. Sie haben sich streng an die Wassermannschen Vorschriften gehalten und dementsprechend auch wohl mit inaktivierten Seris gearbeitet. Als Antigen benutzten sie alkoholische Extrakte aus der Leber eines an Flecktyphus verstorbenen Kranken. Ihre Resultate waren völlig negativ. Auch mit einem Rinderherzextrakt, der sich bei Lues brauchbar erwiesen hatte, hatten sie bei 10 untersuchten Fleckfieberseris stets negative Resultate.

Auch Brauer gibt in seiner Monographie über „Die Erkennung und Verhütung des Flecktyphus und Rückfallfiebers“ an, daß die Wassermannsche Reaktion bei Fleckfieber gewöhnlich negativ ausfalle.

Während die bisher genannten Autoren bei ihren Komplementablenkungsversuchen, soweit ersichtlich ist (mit Ausnahme von Cathoire, der außerdem eine von der üblichen Komplementablenkung abweichende Methodik benutzte) das zu untersuchende Serum in inaktiviertem Zustande verwandt haben, wie es bei der Anstellung der Wassermannschen Reaktion vorgeschrieben ist, hat Markl bei seinen Untersuchungen aktives Serum benutzt, sich im übrigen aber an die Wassermannsche Versuchsanordnung gehalten. Als Antigen benutzte er teils alkoholische, teils mit Ringerscher Flüssigkeit hergestellte Organextrakte. Er hatte sowohl bei Krankenseris vom 3. Tage der Krankheit ab als auch bei Rekonvaleszentenseris positive Resultate. Die Hemmung war allerdings keine komplette und dauernde, aber gegenüber den Kontrollen war der Ausfall der Reaktion stets deutlich.

Schließlich hat kürzlich noch Delta Versuche über die Brauchbarkeit der Wassermannschen Reaktion zu diagnostischen Zwecken beim Typhus exanthematicus angestellt. Er benutzte Organextrakte, gibt aber nicht besonders an, ob er das zu untersuchende Serum im aktiven oder inaktiven Zustande verwandt hat. Seine Untersuchungsergebnisse waren folgende: er fand eine positive Wassermannsche Reaktion fast regelmäßig bei allen von ihm untersuchten Fleckfieberkranken. Die Reaktion war im Beginn der Erkrankung zwar noch negativ, wurde aber fast regelmäßig zurzeit der beginnenden Entfieberung positiv, um nach einiger Zeit (Maximum höchstens 2 Monate) wieder negativ zu werden. Er erhielt sowohl mit syphilitischen als auch mit Fleckfieberextrakten positive Resultate. — So viel über die bisher vorliegenden Versuche, deren Resultate so wenig übereinstimmend sind, daß eine erneute Prüfung der Frage über die Bedeutung der Komplementablenkungsreaktion beim Fleckfieber geboten erschien.

Die von uns angestellten Versuche beziehen sich auf die Untersuchungen des Blutserums von über 100 Fleckfieberkranken. Es handelte sich in der bei weitem größten Mehrzahl um kriegsgefangene Russen. Von einem Teile der Kranken ist das Blut mehrfach zu verschiedenen Zeiten untersucht.

Die folgende Tabelle 1a enthält die Untersuchungsergebnisse derjenigen Fleckfiebersera, bei denen mit den gleichen Extrakten und Extrakt Dosen gearbeitet ist. 100 Serumproben wurden in aktivem

Zustände und 71 inaktiviert mit je einem Lues- und Fleckfieberextrakt geprüft.

Bei dem Luesextrakt handelt es sich um einen alkoholischen Leberextrakt von einemluetischen Foetus, bei dem Fleckfieberextrakt um einen alkoholischen¹⁾ Milzextrakt aus der Leiche eines am 6. Krankheitstage verstorbenen Mannes. Die Extrakte waren in der üblichen Weise (1 g Organsubstanz auf 10 ccm Alkohol) hergestellt. Beide Extrakte hatten vor ihrer Verwendung längere Zeit gelagert. Der Luesextrakt war etwa 1 Jahr, der Fleckfieberextrakt $\frac{1}{4}$ Jahr alt. Sie waren durch Vorversuche genau eingestellt und zeigten keine Titterschwankungen. Bezüglich der Dosis ist zu bemerken, daß wir bei der Anstellung der Komplementbindung mit aktivem Serum (Modifikation der Wassermannschen Reaktion nach Sachs-Altmann) kleinere Antigendosen verwandten als bei der Anstellung der Serumreaktion mit inaktiviertem Serum, nachdem sich gezeigt hatte, daß im ersteren Falle die

Tabelle 1a.

Uebersicht über die untersuchten Sera von Fleckfieberkranken und -rekonvaleszenten.

Lfd. No.	Krank- heitstag	Aktives Serum						Lfd. No.	Krank- heitstag	Inaktives Serum					
		Fleckfieberextrakt			Luesextrakt					Fleckfieberextrakt			Luesextrakt		
		+	±	—	+	±	—			+	±	—	+	±	—

1. Krankheitswoche.															
1	2	.	.	—	.	.	—	1 (2)	2	.	.	—	.	.	—
2	3	+	.	.	+
3	4	+	.	.	+
4	5	+	—
5	6	.	.	—	.	.	—	2 (7)	3	.	.	—	.	.	—
6	7	.	.	—	.	.	—
7	8	+	.	.	+
8	9	.	.	—	.	.	—
9	10	+	.	.	+
10	11	.	.	—	.	.	—	3 (11)	4	.	.	—	.	.	—
11	12	.	.	—	.	.	—	4 (12)	5	.	.	—	.	.	—
12	13	+	.	.	+	.	.	5 (13)	6	.	.	—	.	.	—
13	14	+	.	.	+	.	.	6 (14)	7	.	.	—	.	.	—
14	15	.	.	—	.	±
15	16	+	.	.	+
16	17	.	.	—	.	.	—	7 (17)	8	.	.	—	.	.	—
17	18	.	.	—	.	.	—	8 (18)	9	.	.	—	.	.	—
18	19	.	.	—	.	.	—
19	20	+	.	.	+
20	21	.	±	.	.	±
21	22	+	.	.	+
22	23	+	.	.	+
23	24	.	.	—	.	.	—
24	25	+	.	.	+	.	.	9 (25)	7	.	±	.	+	.	.
25	26	.	.	—	+	.	.	10 (26)	8	.	.	—	.	.	—
26	27	.	.	—	.	.	—	11 (27)	9	.	.	—	.	.	—
27	davon	12	1	14	12	2	13	11	davon		1	10	1		10

1) Auch mit wäßrigen Extrakten haben wir Versuche angestellt, doch erwiesen sich diese als wenig brauchbar.

Tabelle 1a (Fortsetzung).

Lfd. No.	Krank- heitstag	Atines Serum						Lfd. No.	Krank- heitstag	Inaktives Serum					
		Fleckfieberextrakt			Luesextrakt					Fleckfieberextrakt			Luesextrakt		
		+	±	—	+	±	—			+	±	—	+	±	—

2. Krankheitswoche.															
1	8	+	.	.	+	.	.	1	(2)	8
2	"	+	.	.	+	.	.	2	(3)	"	.	.	—	.	—
3	"	+	.	.	+	.	.	3	(4)	"	.	.	—	.	—
4	"	+	.	.	+	.	.	4	(5)	"	.	.	—	.	—
5	"	.	.	—	.	±	—	5	(6)	"	.	.	—	.	—
6	"	.	.	—	"	.	.	—	.	—
7	9	+	.	.	+	"	.	.	—	.	—
8	"	+	.	.	+	.	.	6	(8)	9	.	.	—	.	—
9	10	+	.	.	+	"	.	.	—	.	—
10	"	+	.	.	+	.	.	7	(10)	10	.	.	—	.	—
11	"	+	.	.	+	.	.	8	(11)	"	.	.	—	.	—
12	11	+	.	.	+	.	.	9	(12)	11	.	.	—	.	—
13	12	.	±	.	.	.	—	.	.	"	.	.	—	.	—
14	"	.	.	—	.	.	—	.	.	"	.	.	—	.	—
15	"	.	.	—	.	.	—	.	.	"	.	.	—	.	—
16	"	.	.	—	+	.	.	10	(16)	"	.	.	—	.	—
17	"	+	.	.	+	.	.	11	(17)	"	.	.	—	.	—
18	"	.	.	—	.	.	—	12	(18)	"	.	.	—	.	—
19	13	+	.	.	+	"	.	.	—	.	—
20	"	+	.	.	+	.	.	13	(20)	13	.	.	—	.	—
21	"	+	.	.	+	.	.	14	(21)	"	.	.	—	.	—
22	"	+	.	.	+	.	.	15	(22)	"	.	.	—	.	—
23	"	+	.	.	+	.	.	16	(23)	"	+	.	+	.	—
24	"	+	.	.	+	.	.	17	(24)	"	.	.	—	.	—
25	"	.	.	—	+	.	.	18	(25)	"	.	.	—	.	—
26	14	+	.	.	+	"	.	.	—	.	—
27	"	+	.	.	+	.	.	19	(27)	14	.	.	—	.	—
28	"	.	.	—	.	.	—	.	.	"	.	.	—	.	—
29	"	+	.	.	+	.	.	20	(29)	"	.	.	—	.	—
29	davon	20	1	8	22	1	6	20	davon	1		19	1		19

3. Krankheitswoche.

1	15	+	.	.	+	.	.	1	(1)	15	.	±	.	.	±	.
2	"	+	.	.	.	±	—	2	(2)	"	.	.	—	.	.	—
3	16	.	.	—	.	.	—	3	(4)	16	.	.	—	.	.	—
4	"	+	.	.	+	.	.	4	(5)	17	.	±	.	+	.	.
5	17	.	.	—	.	.	—	5		"
6	18	.	±	.	.	.	—	6	(8)	18
7	"	.	.	—	+	.	—	7	(9)	"	+	.	.	+	.	.
8	"	+	.	.	+	.	.	8	(10)	"	.	.	—	.	.	—
9	"	+	.	.	+	.	.	9	(11)	"	.	±	.	.	.	—
10	"	+	.	.	+	.	.	10	(14)	20	+	.	.	+	.	.
11	19	.	±	.	+	.	.	11	(15)	"	.	.	—	.	.	—
12	20	+	.	.	+	.	.	12	(16)	21	+	.	.	+	.	.
13	"	—	13	(17)	"	.	.	—	.	.	—
14	"	+	.	.	+	.	.	14	(18)	"	.	.	—	.	.	—
15	21	.	.	—	.	±	.	15		"
16	"	.	.	—	.	±	.	16		"
17	"	+	.	.	+	.	.	17		"
18	"	.	.	—	.	±	.	18		"
18	davon	8	3	7	8	3	7	14	davon	3	3	8	4	1	9	

Tabelle 1a (Fortsetzung).

Lfd. No.	Krank- heitstag	Aktives Serum						Lfd. No.	Krank- heitstag	Inaktives Serum					
		Fleckfieberextrakt			Luesextrakt					Fleckfieberextrakt			Luesextrakt		
		+	±	—	+	±	—			+	±	—	+	±	—
4. Krankheitswoche.															
1	22	.	.	—	+	.	.	1	22	.	.	—	.	.	—
2	23	.	.	—	.	.	—	2	23	.	.	—	.	.	—
3	24	.	.	—	+	.	.	3	24	.	.	—	.	.	—
4	25	.	.	—	.	.	—	4	25	.	.	—	.	.	—
5	25	.	.	—	.	.	—	5	25	.	.	—	.	.	—
6	26	+	.	.	+	.	.	6	26	.	.	—	.	.	—
7	26	+	.	.	+	.	.	7	26	+	.	—	+	.	.
8	27	.	.	—	.	.	—	8	27	—
9	27	.	.	—	+	.	.	9	27	.	.	—	.	.	—
10	28	.	.	—	.	.	—	10	28	.	.	—	.	.	—
10	davon	2		8	5		5	10	davon	1		9	1		9
5. Krankheitswoche.															
1	30	.	.	—	.	±	.	1	30	.	.	—	.	.	—
2	31	.	.	—	.	.	—	2	31	.	.	—	.	.	—
3	"	.	±	.	+	.	.	3	"	.	±	.	.	.	—
4	"	+	.	.	+	.	.	4	"	+	.	.	+	.	.
5	32	.	±	.	+	.	.	5	32	.	.	—	.	.	—
6	33	.	.	—	.	.	—	6	33	.	.	—	.	.	—
6	davon	1	2	3	3	1	2	6	davon	1	1	4	1		5
6. Krankheitswoche.															
1	36	.	.	—	.	.	—	1	36	.	.	—	.	.	—
2	37	.	.	—	.	.	—	2	37	.	.	—	.	.	—
3	"	.	.	—	.	.	—	8	"	.	.	—	.	.	—
4	"	.	.	—	.	.	—	4	"	.	.	—	.	.	—
5	40	.	.	—	.	.	—	5	40	.	.	—	.	.	—
7. Krankheitswoche.															
6	46	.	.	—	.	.	—	6	46	.	.	—	.	.	—
7	48	.	.	—	.	.	—	7	48	.	.	—	.	.	—
8. Krankheitswoche.															
8	49	.	.	—	.	.	—	8	49	.	.	—	.	.	—
9	53	.	.	—	.	.	—	9	53	.	.	—	.	.	—
10	"	.	.	—	.	.	—	10	"	.	.	—	.	.	—
10	davon			10			10	10	davon			10			10

bei der Wassermannschen Reaktion üblichen Dosen zu stark wirksam waren, da sie noch bei sehr vielen Kontrollseris positive Resultate ergaben, wo die Wassermannsche Originalmethode völlig negativ ausfiel. Wir haben daher beide Extrakte auf ihren Titer für aktive Sera besonders eingestellt. Die von uns bei diesen Vorversuchen ermittelten und bei den folgenden Versuchen (s. Tabelle 1a) verwandten Extrakt-dosen waren folgende:

- 1) Luesextrakt: für inakt. Serum 0,12 ccm, für aktives Serum 0,09 ccm
- 2) Fleckfieberextrakt: „ „ „ 0,18 „ „ „ „ 0,1 „

Die Versuchsanordnung entsprach der im Institut üblichen Technik bei der Ausführung der Wassermannschen Reaktion; speziell

Tabelle 1b.

Ausfall der Komplementbindungsreaktion bei Fleckfieber.
(Absolute Zahlen.)

Krank- heits- woche	Zahl der Sera	Aktives Serum						Zahl der Sera	Inaktives Serum					
		Fleckfieber- extrakt			Luesextrakt				Fleckfieber- extrakt			Luesextrakt		
		+	±	—	+	±	—		+	±	—	+	±	—
1	27	12	1	14	12	2	13	11	0	1	10	1	0	10
2	29	20	2	7	22	1	6	20	1	0	19	1	0	19
3	18	8	3	7	8	3	7	14	3	3	8	4	1	9
4	10	2	0	8	5	0	5	10	1	0	9	1	0	9
5	6	1	2	3	3	1	2	6	1	1	4	1	0	5
6—8	10	0	0	10	0	0	10	10	0	0	10	0	0	10
Summa	100	43	8	49	50	7	43	71	6	5	60	8	1	62

Tabelle 1c.

Ausfall der Komplementbindungsreaktion bei Fleckfieber.
(Befunde in Prozent.)

Krank- heits- woche	Zahl der Sera	Aktives Serum						Zahl der Sera	Inaktives Serum					
		Fleckfieber- extrakt			Luesextrakt				Fleckfieber- extrakt			Luesextrakt		
		+°/°	±°/°	—°/°	+°/°	±°/°	—°/°		+°/°	±°/°	—°/°	+°/°	±°/°	—°/°
1	27	44	4	52	44	8	48	11	0	9	91	9	0	91
		48			52				9			9		
2	29	69	7	24	76	3,5	20,5	20	5	0	95	5	0	95
		76			79,5				5			5		
3	18	44	16,5	39,5	44	16,5	39,5	14	21	21	58	28	7	65
		60,5			60,5				42			35		
4	10	20	0	80	50	0	50	10	10	0	90	10	0	90
		20			50				10			10		
5	6	16,5	33,5	50	50	16,5	33,5	6	16,5	16,5	67	16,5	0	83,5
		50			66,5				33			16,5		
6—8	10	0	0	100	0	0	100	10	0	0	100	0	0	100
		0			0				0			0		
Summa	100	43	8	49	50	7	43	71	8,5	7	84,5	11	1,5	87,5
		51			57				15,5			12,5		

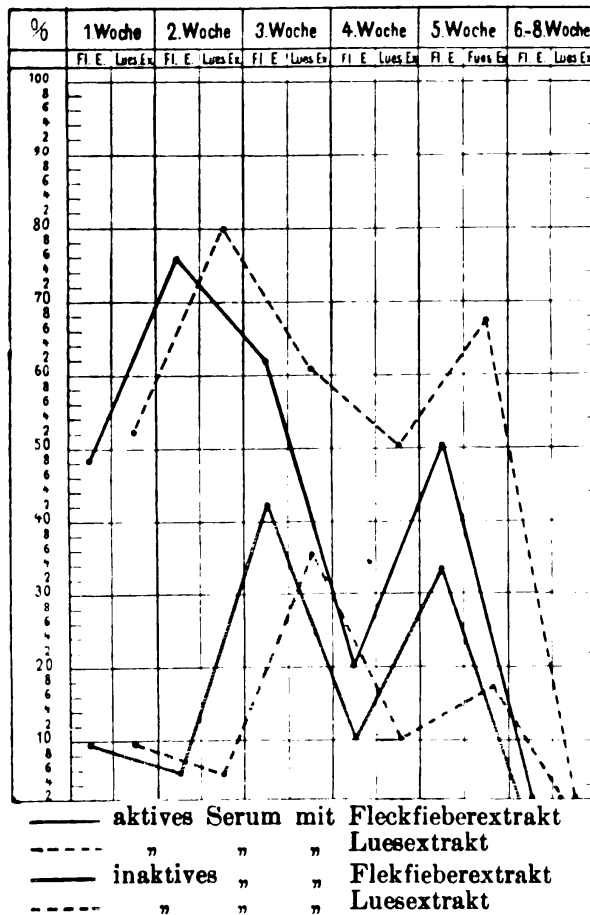
sind an Stelle der ursprünglichen, auf 1 ccm berechneten Dosen von uns regelmäßig die halben Dosen angewandt. Die Menge des untersuchten Serums betrug jedesmal 0,1 ccm, die Komplementdosis 0,05 ccm (0,5 ccm 1:10). Von der im Vorversuch mit dieser Dosis wirksam befundenen Amboceptormenge wurde die vierfache Dosis benutzt. Gesamtmenge im Reagensglas: 2,5 ccm. Beobachtung des Reaktionsverlaufs und Notierung der Resultate: a) 1½ Stunde nach der Lösung Kontrollen, und b) nach weiterem 24-stündigen Stehenlassen im Eisschrank. Die

Resultate waren nach 24 Stunden stets unverändert. Nur in einzelnen Versuchen war eine gewisse Nachlösung zu beobachten, und zwar fast ausschließlich bei der Prüfung von Luesseris mit Fleckfieberextrakt.

Was nun die Versuchsergebnisse betrifft, so reagierte, wie Tabelle 1a zeigt, ein großer Teil der untersuchten Sera von Fleckfieberkranken mit beiden Extrakten positiv, es ergab sich jedoch

Tabelle 1d.

Verschiedener Ausfall der Komplementbindungsreaktion in den einzelnen Wochen nach der Erkrankung bei den verschiedenen Methoden.



schließlich der schwach positiven Reaktionen) 60,5 Proz. positive Resultate.

In der 4.—5. Woche reagierten von den im aktiven Zustande untersuchten Seris noch rund 45 Proz. positiv, während von der 6. Woche ab weder mit dem Fleckfieber-, noch mit dem Luesextrakt positive Resultate mehr erzielt wurden.

Auch bei den inaktivierten Seris fanden sich in der 4. und 5. Woche noch 10—33 Proz. positive Resultate, während solche von der 6. Woche ab auch hier nicht mehr festgestellt sind.

Mit aktivem Serum erhielten wir die ersten positiven Resultate am 3., die letzten positiven Befunde am 32. Tage nach der Erkrankung;

ein erheblicher Unterschied, je nachdem man die Sera aktiv oder inaktiv untersuchte. Aus der Tabelle 1c geht hervor, daß 57 Proz. der Sera in aktivem Zustande mit Luesextrakt positiv reagierten, während in inaktivem Zustande dies nur bei 12,5 Proz. der Fall war. Mit Fleckfieberextrakt reagierten 51 Proz. bzw. 15,5 Proz. positiv. Die Reaktion war bei der Verwendung von aktivem Serum am häufigsten in der 2. Krankheitswoche positiv (76 bzw. 79,5 Proz.), während bei der Verwendung von inaktivem Serum sich die meisten positiven Resultate in der 3. Krankheitswoche (42 bzw. 35 Proz.) fanden. Hierzu ist zu bemerken, daß es sich bei diesen Seris, die in den verschiedenen Krankheitswochen untersucht sind, nicht immer um gleiche Blutproben handelt, und daß die Reaktion in einem hohen Prozentsatz nur schwach positiv (+) ausfiel. Mit aktiven Seris fanden wir in der 3. Krankheitswoche (ein-

Tabelle 2.

Untersuchungsbefunde mit Fleckfieber- und Luesextrakten bei luesverdächtigen Personen (Kontrollsera I).

Datum der Untersuchung	Aktives Serum							Inaktives Serum						
	Lfd. No.	Fleckfieber-extrakt			Luesextrakt			Lfd. No.	Fleckfieber-extrakt			Luesextrakt		
		+	±	—	+	±	—		+	±	—	+	±	—
6. März	1	.	.	— (?)	.	.	—
" "	2	+	.	—	+	.	—
" "	3	.	.	—	.	.	—
9. "	4	.	.	—	.	.	—
" "	5	.	.	—	.	.	—
" "	6	.	.	—	.	.	—
" "	7	.	±	—	+	.	—
" "	8	.	.	—	.	.	—
" "	9	.	.	—	.	.	— (?)
" "	10	.	.	—	.	.	—
" "	11	.	.	—	.	.	—
" "	12	.	.	—	+	.	—
13. "	13	.	.	—	+	.	—
" "	14	.	.	—	.	.	—
" "	15	.	.	—	.	.	—
" "	16	.	.	—	.	.	—
17. "	17	+	.	—	+	.	—
" "	18	.	±	—	+	.	—
20. "	19	.	±	—	.	±	—
" "	20	.	.	— (?)	.	.	—
23. "	21	.	.	— (?)	.	.	—
" "	22	.	.	— (?)	+	.	—
29. "	23	+	.	—	+	.	—
3. April	24	+	.	—	+	.	—
" "	25	+	.	—	.	±	—
" "	26	+	.	—	+	.	—
7. "	27	+	.	—	+	.	—
" "	28	+	.	—	+	.	—
" "	29	+	.	—	+	.	—
" "	30	.	.	—	.	.	—
" "	31	.	.	—	.	.	—
" "	32	.	.	—	.	.	—
" "	33	.	.	— (?)	+	.	—
" "	34	+	.	— (?)	+	.	—
10. "	1	.	.	—	+	.	.	35	.	.	— (?)	+	.	—
" "	36	.	.	—	.	.	—
" "	37	.	.	—	.	.	—
14. "	38	+	.	—	+	.	—
" "	39	.	.	—	.	±	—
15. "	2	.	.	—	.	±	.	40	+	.	—	+	.	—
" "	41	.	.	—	.	.	—
" "	3	.	±	.	+	.	.	42	.	.	—	.	.	—
17. "	4	.	.	—	.	.	—	43	.	.	—	.	.	—
" "	5	.	.	—	.	±	.	44	.	.	—	.	.	—
" "	6	.	.	—	+	.	.	45	.	.	—	.	.	—
21. "	7	46	+	.	—	+	.	—
" "	47	.	.	—	.	.	—
24. "	48	.	±	—	+	.	—
" "	49	.	±	—	+	.	—
" "	50	.	±	—	+	.	—
" "	51	.	±	—	.	±	—
27. "	52	+	.	—	+	.	—
" "	53	.	±	—	+	.	—
" "	54	+	.	—	+	.	—
" "	55	.	.	—	.	.	—

Erste Abt. Orig. Bd. 77.

Heft 2.

13

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Datum der Untersuchung	Aktives Serum							Inaktives Serum						
	Lfd. No.	Fleckfieber-extrakt			Luesextrakt			Lfd. No.	Fleckfieber-extrakt			Luesextrakt		
		+	±	—	+	±	—		+	±	—	+	±	—
27. April	56	.	.	—	.	.	—
28. „	8	+	.	.	+	.	.	57	+	.	.	+	.	.
„ 3. Mai	9	.	.	—	.	.	—	58	.	.	—	.	.	—
„ „	59	.	.	—	.	.	—
„ „	60	.	.	—	.	.	—
„ „	61	.	.	—	.	.	—
„ „	62	.	.	—	.	.	—
„ „	63	.	.	—	.	.	—
23. „ Aug.	10	+	.	.	+	.	.	64	+	.	.	+	.	.
„ „	11	+	.	.	+	.	.	65	+	.	.	+	.	.
25. „	12	+	.	.	+	.	.	66	+	.	.	+	.	.
„ „	13	.	.	—	.	.	— (?)	67	+	.	.	+	.	.
„ „	14	+	.	.	+	.	.	68	.	.	—	.	.	—
„ „	15	.	±	.	+	.	.	69	.	±	.	.	.	—
„ „	16	+	.	.	+	.	.	70	+	.	.	+	.	.
„ „	17	.	±	.	+	.	.	71	+	.	.	+	.	.
„ „	18	.	.	—	+	.	.	72	.	.	—	.	.	—
„ „	19	+	.	.	+	.	.	73	+	.	.	+	.	.
„ „	20	+	.	.	+	.	.	74	+	.	.	+	.	.
„ „	21	+	.	.	+	.	.	75	+	.	.	+	.	.
„ „	22	.	±	.	+	.	.	76	+	.	.	+	.	.
								77	.	.	— (?)	+	.	.
	22	9	4	9	16	3	3	77	26	9	42	37	4	36

Tabelle 3a.

Vergleich der Resultate bei der Untersuchung von Sera verschiedener Herkunft mit Fleckfieber- und Luesextrakt.
(Befunde in Prozent.)

	An- zahl	Aktives Serum						An- zahl	Inaktives Serum					
		Fleckfieber- extrakt			Luesextrakt				Fleckfieber- extrakt			Luesextrakt		
		+°/°	±°/°	—°/°	+°/°	±°/°	—°/°		+°/°	±°/°	—°/°	+°/°	±°/°	—°/°
A. Fleckfiebersera : Kranke u. Rekon- valeszenten	100	43	8	49	50	7	43	71	8,5	7	84,5	11	1,5	87,5
		51			57				15,5			12,5		
B. Kontrollproben : I. Luesverdächtige Sera	22	41	18	41	73	13,5	13,5	77	34	12	54	48	5	47
		59			86,5				46			53		
C. II. Typhussera : Kranke u. Rekon- valeszenten	8	0	12,5	87,5	12,5	12,5	75	8	0	12,5	87,5	0	0	100
		12,5			25				12,5			0		

mit inaktiviertem Serum fiel die Probe je einmal am 7. und 13. Krankheitstage, dann aber häufiger in der 3. Krankheitswoche positiv aus. Der letzte positive Befund betraf ein Serum, das am 31. Tage nach der Erkrankung entnommen war.

Mit den gleichen Extrakten haben wir sodann eine Anzahl Sera von Lueskranken und -verdächtigen Personen untersucht. Wie aus den Tabellen 2 und 3a hervorgeht, reagierten von diesen Serumproben in inaktiviertem Zustande (Wassermannsche Reaktion) mit dem Luesextrakt 53 Proz. positiv und 47 Proz. negativ, während mit dem Fleckfieberextrakt 46 Proz. eine positive und 54 Proz. eine negative Reaktion gaben.

Daraus kann man zunächst schließen, daß bei Lueskranken der Luesextrakt stärker wirksam war als der Fleckfieberextrakt. Dem entspricht

auch der Befund, daß bei den Fleckfieberseris die deutlich positiven Befunde mit dem Luesextrakt prozentualiter höher waren (s. Tabelle 3a). Rechnet man aber die „schwach positiven“ Resultate mit ein, welche mit den Extrakten bei der Untersuchung von Fleckfieberseris und Lues- bzw. luesverdächtigen Seris gewonnen sind, so ergibt sich, daß bei den Fleckfieberuntersuchungen auf 12,5 Proz. positive Befunde mit Luesextrakt 15,5 Proz. positive mit Fleckfieberextrakt kommen. Nach den Ergebnissen bei der Untersuchung von Luesseris wären nur 10,5 Proz. positive Befunde zu erwarten gewesen.

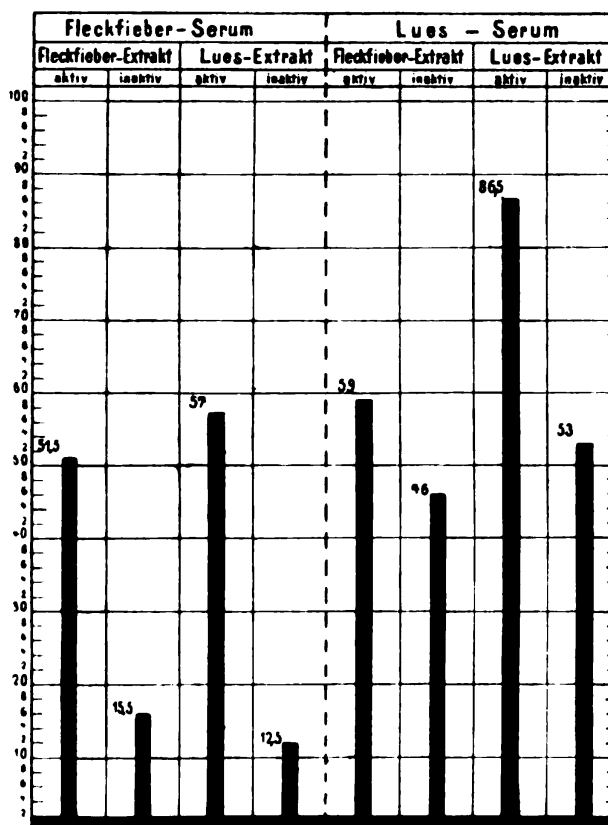
Noch deutlicher ist der Unterschied zwischen Fleckfieber- und Lues-Extrakt bei der Untersuchung von fleckfieber- und luesverdächtigen Seris in aktivem Zustande.

Bei dieser Versuchsanordnung erhält man bekanntlich auch bei Lues verhältnismäßig mehr positive Resultate als bei der eigentlichen Wassermannschen Reaktion. Dementsprechend ist auch bei den luesverdächtigen Seris die Zahl der positiven Befunde von 53 auf 86,5 Proz. bei Verwendung des Luesextraktes und von 46 auf 59 Proz. bei Verwendung des Fleckfieberextraktes gestiegen.

Bei den Fleckfieberseris ergab der Luesextrakt bei der Untersuchung mit aktivem Serum 57 Proz. positive Reaktionen. Für den Fleckfieberextrakt wären bei gleichartiger Wirksamkeit bei Fleckfieberkranken nur 39 Proz. positive Befunde zu erwarten gewesen; statt dessen ergab der Fleckfieberextrakt mit Fleckfieberseris fast ebensoviel positive Befunde wie der Luesextrakt, nämlich 51 Proz.

Tabelle 3b.

Ausfall der Komplementbindungsreaktion mit den gleichen Extrakten bei Fleckfieber- und Lues-Seris (Verwendung aktiven und inaktivierten Serums).



Hieraus darf man vielleicht schließen, daß die Komplementbindungsreaktion an und für sich zwar unspezifisch ist, und daß dementsprechend bei Fleckfieber und bei Lues mit dem stärker wirksamen Luesextrakt prozentualer mehr positive Befunde erhoben wurden als mit dem schwächer wirksamen Fleckfieberextrakt. Andererseits weisen aber die Befunde darauf hin, daß doch eine gewisse Spezifität bei der Fleckfieber-Komplementbindungsreaktion mit Organextrakten besteht, die daran erkenntlich ist, daß der an und für sich (bei Luesseris) schwächer wirksame Fleckfieberextrakt bei Fleckfiebererkrankungen (bei Einschluß der +-Reaktionen) mehr positive Resultate ergeben hat, als nach seiner Wirksamkeit bei den Luesseris zu erwarten ist.

Betrachtet man die Kurve 1d, welche den verschiedenen Ausfall der Komplementbindungsreaktion in den einzelnen Krankheitswochen zeigt, so sieht man, daß die Kurve — wie bereits erwähnt — bei aktiven Seris anders verläuft als bei inaktivierten. Man muß daher vielleicht damit rechnen, daß bei der Komplementbindung mit aktivem und mit inaktiviertem Serum verschiedene Reaktionskörper in Aktion treten, die zu der Spezifität der Reaktion mehr oder weniger Beziehung haben. Da nicht immer die gleichen Sera untersucht sind, so kann auch der Einwand nicht von der Hand gewiesen werden, daß unter den in der 3. Krankheitswoche untersuchten Fleckfieberkranken vielleicht zufällig mehrere latente Luetiker gewesen sind.

Nachdem sich gezeigt hatte, daß die Serodiagnostik mit der eigentlichen Wassermannschen Versuchsanordnung beim Fleckfieber weniger zahlreiche positive Resultate ergibt als die Untersuchung von aktiven Seris, haben wir noch besondere Versuche mit dieser letzteren Modifikation der Wassermannschen Reaktion (Verwendung aktiven Serums) beim Typhus abdominalis angestellt.

Hierzu wurden wir veranlaßt, weil erfahrungsgemäß gerade der Typhus abdominalis differentialdiagnostische Schwierigkeiten bei der Fleckfieberdiagnose bereitet.

Wie die folgende Tabelle 4 zeigt, verlief die Komplementbindungsreaktion bei diesen Seris (mit Ausnahme einer Serumprobe) mit unseren beiden Extrakten stets negativ. In dem einen Falle war sie mit aktivem

Tabelle 4.

Untersuchung der Sera von Typhuskranken und Typhusrekonsaleszenten.
(Kontrollsera II).

Lfd. No.	Krankheits-tag	Tag nach der Ent-fieberung	Aktives Serum						Inaktives Serum					
			Fleckfieber-extrakt			Luesextrakt			Fleckfieber-extrakt			Luesextrakt		
			+	±	—	+	±	—	+	±	—	+	±	—
1	6	.	.	.	—	.	.	—	.	.	—	.	.	—
2	10	.	.	.	—	.	.	—	.	.	—	.	.	—
3	11	.	.	.	—	.	.	—	.	.	—	.	.	—
4	16	.	.	.	—	.	.	—	.	.	—	.	.	—
5	17	.	.	.	—	.	.	—	.	.	—	.	.	—
6	17	.	.	.	—	.	.	—	.	.	—	.	.	—
7	.	5	.	±?	.	+	.	.	.	±	.	.	.	—
8	.	7	.	.	—	.	.	—	.	.	—	.	.	—

Serum mit Luesextrakt deutlich positiv, mit Fleckfieberextrakt aber nur schwach positiv (?).

Zusammenfassung.

1) Die Komplementbindungsreaktion mit alkoholischen Organextrakten als Antigen fällt beim Fleckfieber in einem hohen Prozentsatz der Kranken- und der Rekonvaleszenten-Sera positiv aus, wenn zur Anstellung der Reaktion frisches (aktives) Patientenserum benutzt wird. Bei Verwendung inaktivierter Sera ist die Zahl der positiven Reaktionen erheblich geringer.

2) Die Reaktion trat vom 3. Krankheitstage ab auf, und war bei Verwendung von aktiven Seris in der 2. (bei inaktivierten Seris in der 3.) Krankheitswoche am häufigsten positiv. Sie wurde auch in der Rekonvaleszenz bis zur 5. Krankheitswoche positiv befunden.

3) Die Reaktion ist vielleicht in gewissem Grade spezifisch, aber sowohl mit Lues- als auch mit Fleckfieber-Organextrakten zu erzielen.

4) Dem positiven Ausfall der Reaktion kommt insofern eine differentialdiagnostische Bedeutung zu, als mit unseren Extrakten die Reaktion beim Typhus abdominalis fast immer negativ verlief. Auf Grund der Reaktion werden sich daher ohne Exantheme verlaufende Erkrankungen als Fleckfieber erkennen lassen, besonders wenn eine zunächst positiv verlaufende Reaktion einige Zeit später wieder negativ ausfällt.

Literatur.

- 1) Cathoire, Recherche de la déviation du complément dans le Typhus exanthématique. (Compt. rend. hebd. de la Soc. de Biol. 1910. p. 117.)
- 2) Rabinowitsch, Ueber die Komplementbindung bei Flecktyphus durch den wäßrigen Extrakt aus dem Fleckfiebererreger. (Deutsche med. Wochenschr. 1912. No. 43.)
- 3) Arzt und Kerl, Variola- und Flecktyphusstudien an den bosnischen Rückwanderern aus dem Balkan. (Wien. klin. Wochenschr. 1913. No. 20.)
- 4) Müller, Paul Th., Bakteriologische Untersuchungen bei Flecktyphus. (Arch. f. Hyg. Bd. 81. 1913.)
- 5) Markl, Beitrag zur serologischen Diagnose des Flecktyphus. (Wien. klin. Wochenschrift. 1913. No. 30.)
- 6) Brauer, L., Die Erkennung und Verhütung des Flecktyphus und Rückfallfiebers. Würzburg 1915.
- 7) Delta, Sur la réaction de Wassermann dans le Typhus exanthématique. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. H. 1.)

Nachdruck verboten.

Die Differenzierung der Pneumokokken und Streptokokken durch Optochin.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin (Leiter: Dr. Kurt Meyer).]

Von Dr. Gertrud Nachmann.

Die verschiedenen Methoden zur Differenzierung des *Streptococcus viridans* und des *Pneumococcus* liefern nicht immer eindeutige Resultate. So ist z. B. der Tierversuch nicht immer entscheidend, weil der *Str. viridans* Virulenz für Mäuse haben kann, andererseits der *Pneumococcus* sie nicht zu haben braucht, so daß in letzterem Falle auch die Möglichkeit fortfällt, durch vorhandene Kapselbildung im Tierkörper die beiden Arten zu unterscheiden.

Auch die Angabe von Hiss, daß das Inulin durch Pneumokokken und *Streptococci mucosi* vergoren wird, durch den *Str. viridans* aber unverändert bleibt, ist nicht allgemein gültig, da auch manche echte Streptokokken Inulin vergären und da in seltenen Fällen Pneumokokken keine Spaltung bewirken.

Das beste Hilfsmittel zur Differenzierung ist gegenwärtig wohl das taurocholsaure Natrium, das R. Levy¹⁾ auf Veranlassung Morgenroths in die Diagnostik eingeführt hat, indem er von der Beobachtung Neufelds²⁾ ausging, daß Pneumokokken durch Galle aufgelöst werden. Die Wirkung des taurocholsauren Natriums soll nach Levys Vorschrift makroskopisch und mikroskopisch geprüft werden. Bedingung für das gute Gelingen des Versuches ist, daß man sich jedesmal vor Gebrauch die Lösung frisch bereitet, da bei längerem Stehen die Galle unsteril wird und den richtigen Ausfall der Reaktion beeinträchtigt. Genügt nun schon letztere Tatsache, um die praktische Verwertbarkeit des Taurochols mindestens zu erschweren, so kommt noch hinzu, daß das gallensaure Salz in verschiedener Güte in den Handel gelangt, so daß auch dadurch die Brauchbarkeit der Reaktion in Frage gestellt wird.

Es erscheint daher nicht überflüssig, nach weiteren Mitteln zu suchen, die leicht und rasch die Diagnose der Pneumokokken ermöglichen; denn mehr noch als für den Bakteriologen ist für den Kliniker gerade neuerdings die Entscheidung wichtig, ob es sich in Fällen wie Sepsis, Pneumonie, Meningitis um Pneumokokken oder den *Str. viridans* handelt, seitdem wir in dem von Morgenroth eingeführten Chininderivat Optochin (Aethylhydrocuprein) ein Mittel haben, die durch Pneumokokken hervorgerufenen Krankheiten therapeutisch günstig zu beeinflussen.

Morgenroth³⁾ und seine Schule⁴⁾ haben durch Tierversuche fest-

1) Levy, R., Virchows Arch. Bd. 187. 1907. p. 327.

2) Neufeld, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 34. 1900. p. 454.

3) Morgenroth, Berlin. klin. Wochenschr. 1914. No. 47. — Morgenroth u. Levy, Berlin. klin. Wochenschr. 1911. No. 34 u. 44.

4) Tugendreich u. Russo, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 19. 1913. p. 156. — Gutmann, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 15. 1912. p. 625.

gestellt, daß Pneumokokken schon durch sehr geringe und für den Organismus unschädliche Mengen von Optochin im Wachstum gehemmt werden, indem die mit Pneumokokken und Optochin gespritzten Mäuse am Leben blieben, während die Kontrolltiere, die nur die Kultur bekamen, starben.

Ausgehend von Morgenroths Untersuchungen, haben dann andere Autoren gezeigt, daß das Wachstum der Pneumokokken auch in vitro durch Optochin gehemmt wird.

Zuerst wies A. E. Wright¹⁾ nach, daß bei einer Verdünnung von Optochin 1:800 000 Pneumokokken nicht mehr wachsen. Neufeld und Schiemann²⁾ ermittelten, daß die Wachstumshemmung erst bei einer Verdünnung, die zwischen 1:300 000 und 1:600 000 liegt, eintritt.

Schiemann und Ishiwara³⁾ fanden ähnliche Werte und zeigten außerdem, daß bei höheren Konzentrationen des Optochins, die zwischen 1:10 000 und 1:3000 liegen, auch Streptokokken gehemmt werden.

Alle diese zu therapeutischen Zwecken angestellten Versuche ließen den Gedanken aufkommen, das Optochin auch als Diagnostikum für Pneumokokken zu verwerten, besonders da Morgenroth selbst einmal beiläufig angedeutet hat⁴⁾, daß es möglich sein müsse, durch Behandlung von Mäusen mit Optochin und der fraglichen Kultur ein Urteil über den betreffenden Stamm abzugeben.

Da die genannten Versuche sich nur auf einige wenige Stämme erstreckten, so mußte das Ziel des vorliegenden Versuches sein, an einer größeren Anzahl von Streptokokken und Pneumokokken nachzuweisen, daß es ein Gebiet der Optochinverdünnung gibt, wo alle Streptokokkenstämme wachsen, Pneumokokkenstämme aber gehemmt werden, um diese Verdünnung dann als das diagnostische Mittel für Pneumokokken in die bakteriologische Praxis einzuführen. Außerdem sollte festgestellt werden, ob der *Streptococcus mucosus*, der schon wegen seiner Tierpathogenität und seiner Auflösbarkeit in taurocholsaurem Natrium zu den Pneumokokken gerechnet worden ist, auch durch sein Verhalten gegenüber dem Optochin ihnen einzureihen ist. Schließlich sollte noch untersucht werden, ob die hemmende Wirkung des Optochins nur eine elektive für Pneumokokken ist, oder ob auch die sonst ebenso empfindlichen Meningo- und Gonokokken von ihm beeinflußt werden.

Der Versuch wurde in vitro angestellt. Es wurden geprüft: 25 Streptokokken, 25 Pneumokokken (einschließlich der *Mucosi*), 4 Gonokokken, 8 Meningokokken, 4 meningokokkenähnliche Stämme, 1 *Micrococcus catarhalis*. Die Diagnose der Streptokokken erfolgte durch das gefärbte Präparat, Hammelblutplatte, Bouillon, Gelatine. Es waren grampositive kurze oder lange Ketten; auf der Blutplatte zeigten sie teils starke, teils schwache Hämolyse. Einige wuchsen anhämolysisch mit bräunlich-grünlicher Verfärbung der Umgebung und erwiesen sich durch den Tierversuch und das Natrium taurocholicum als Viridans-Arten. In Bouillon wuchsen alle, mit Ausnahme eines Stuhl-*Streptococcus*, klar mit Bodensatz. Gelatine wurde nicht verflüssigt.

1) Wright, A. E., Lancet. Dec. 1912.

2) Neufeld u. Schiemann, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. 1913. p. 183.

3) Schiemann, O., u. Ishiwara, T., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 77. p. 49.

4) Gutmann, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 15. 1912. p. 625.

Die Pneumokokken waren sämtlich tierpathogen, wuchsen trübe in Bouillon, hatten kein Wachstum in Gelatine, wurden in taurocholsaurem Natrium gelöst und zeigten auf der Blutplatte anhämolysische Kolonien mit grünlich-schwärzlicher Umgebung, die bei den Mucosi schleimige Beschaffenheit aufwiesen. Im Fuchsinpräparat aus dem Herzblut der Maus zeigten sie die bekannte Lanzettform und lagen zu zweien oder zu kurzen Ketten vereinigt in Kapseln.

Die Meningokokken wuchsen nur auf Ascitesagar, agglutinierten mit Meningokokkenserum, färbten sich nicht nach Gram und hatten, wie die Gonokokken, semmelförmige Gestalt.

Die meningokokkenähnlichen Stämme zeigten bei der Gram-Färbung schwankendes Verhalten; sie verhielten sich bezüglich der Gewöhnung an einfache Nährböden und auf den Lingelsheimischen Zuckernährböden wie der Jägersche *Diplococcus crassus*¹⁾, wurden aber nicht durch Meningokokkenserum agglutiniert.

Die Versuchsanordnung war folgende: Es wurde eine Stammlösung von Optochin in Aqua dest. 1:1000 [0,1 g Substanz Optochin hydrochloricum²⁾ auf 100 ccm Aqua dest. aufgefüllt] unter sterilen Kautelen mit

Tabelle I. Streptokokken.

+ = Wachstum, — = Hemmung.

Klinische Diagnose	Material	Verhalten auf der Blutplatte	Optochinverdünnung			
			1:2500	1:5000	1:10 000	1:20 000
1. Tuberkulöse Osteomyelitis	Eiter	hämolysisch		—	+	+
2. Phlegmone	"	"		—	+	+
3. Abszeß bei Erysipel	"	anhämolysisch		—	+	+
4. " " einer Wunde	"	hämolysisch		—	+	+
5. " " " "	"	"		—	+	+
6. " " Erysipel "	"	"		—	—	+
7. " " " "	"	"		—	+	+
8. Empyem	"	anhämolysisch		—	+	+
9. " "	"	hämolysisch		—	+	+
10. Otitis media	"	"		—	+	+
11. " "	"	"		—	+	+
12. Sepsis	Blut	"		—	+	+
13. " "	"	"		—	+	+
14. Meningitis	Rachenabstrich	"		—	+	+
15. " "	"	"		—	+	+
16. " "	"	anhämolysisch	—	+	+	+
17. " "	"	"		—	—	+
18. Angina	"	hämolysisch		—	—	+
19. " "	"	anhämolysisch	—	+	+	+
20. Normal	"	"		—	+	+
21. Akuter Gelenkrheumatismus	"	"		—	—	+
22. Lobäre Pneumonie	Sputum	"		—	+	+
23. Lungentuberkulose	"	hämolysisch	—	+	+	+
24. Enteritis	Stuhl	anhämolysisch	—	+	+	+
25. " "	"	"		—	+	+

1) Cfr. Lingelsheim, Klin. Jahrb. Bd. 15. 1906. p. 84.

2) Hergestellt von den Vereinigten Chininfabriken Zimmer u. Co., Frankfurt a. M.

Ascitesbouillon um das 100-fache verdünnt, so daß eine Optochinverdün-
nung 1:100 000 entstand, die deshalb gewählt worden war, weil nach
Untersuchungen anderer (siehe Einleitung) Streptokokken hier wachsen
sollten, Pneumokokken aber gehemmt werden, was sich auch bestätigte.
Es sollte nun festgestellt werden einerseits die schwächste Konzentration,
die zur Wachstumshemmung der Streptokokken erforderlich ist, anderer-
seits die höchste Verdünnung des Optochins, welche Pneumokokken
noch gedeihen läßt. Zu diesem Zwecke wurden Optochinlösungen her-
gestellt, die von der Verdünnung 1:100 000 nach oben und unten diver-
gierten, und zwar für die Streptokokken die Lösungen 1:20 000, 1:10 000,
1:5000, für die Pneumokokken 1:200 000, 1:500 000, 1:1 000 000.

Tabelle II. Pneumokokken.

Klinische Diagnose	Material	Verhalten auf der Blutplatte	Optochin- verdünnung		
			1:200 000	1:500 000	1:1 000 000
1. Pneumonie	Sputum	Bräunlich-grünliche Ver- färbung des Nährbodens, ohne Hämolyse	—	—	+
2. "	"	Dgl.	—	—	+
3. "	"	"	—	—	+
4. "	"	"	—	—	+
5. "	"	"	—	+	+
6. "	"	"	—	—	+
7. "	"	"	—	—	+
8. Bronchopneumonie	"	"	—	—	+
9. Lungentuberkulose	"	"	—	—	+
10. "	"	"	—	+	+
11. "	"	"	—	—	+
12. "	"	"	—	+	+
13. Lungenabszeß	"	"	—	—	+
14. Empyem	Eiter	"	—	—	+
15. Meningitis	Liquor cerebrospinalis	"	—	—	+
16. "	Gehirneiter	"	—	+	+
17. "	Liquor cerebrospinalis	"	—	—	+
18. Sepsis	Blut	"	—	+	+
19. Parametritis	Douglas-Punktat	"	—	+	+

Tabelle III. Streptococci mucosi.

1. Pneumonie	Sputum	Keine Hämolyse, schlei- mige, große Kolonien	—	—	+
2. "	"	Dgl.	—	+	+
3. Lungentuberkulose	"	"	—	—	+
4. Meningitis	Liquor cerebrospinalis	"	—	+	+
5. "	Gehirneiter	"	—	+	+
6. Sepsis	Blut	"	—	—	+

Das Ergebnis zeigen die Tabellen I, II und III. Aus diesen ergibt
sich, daß die Streptokokken erst durch höhere Konzentrationen (1:5000
und 1:10000) gehemmt werden. Einige wenige, die bei 1:5000 wuchsen,
wurden noch bei 1:2500 geprüft, wo sie kein Wachstum mehr zeigten.

Was die Pneumokokken einschließlich der Mucosi (Tab. II u. III)
betrifft, so schwanken hier die Wachstumsgrenzen, indem einige bei

1:500 000, andere erst bei 1:200 000 beeinflußt wurden. Jedenfalls ergibt sich als sicher, daß kein Stamm bei einer Verdünnung 1:200 000 noch Wachstum zeigt und ferner, daß die Mucosi sich dem Optochin gegenüber wie Pneumokokken verhalten.

Im Anschluß an die Besprechung der Pneumokokken sollen noch 2 (nicht in der Tabelle aufgeführte) Stämme erwähnt werden, von denen der eine aus pneumonischem Sputum, der andere aus der pneumonischen Lunge einer Leiche stammte; beide waren tierpathogen, bildeten Kapseln, wuchsen auf der Blutplatte anhämolysierend und schleimig, verhielten sich also wie Mucosi, lösten sich dagegen nicht in gallensaurem Natrium und verhielten sich auch im Optochin nicht wie Pneumokokken, sondern wie Streptokokken, indem sie erst bei 1:5000 gehemmt wurden. Es handelt sich hier offenbar um Stämme, die einen Uebergang zwischen dem *Str. mucosus* und dem *Str. viridans* darstellen, wie denn eine solche Abart auch schon von R. Levy beschrieben wurde. Dieses Vorkommen würde aber nichts gegen die praktische Verwertbarkeit des Optochinversuches beweisen, da solche im Reagensglase nicht beeinflussbaren Stämme wahrscheinlich auch therapeutisch nicht anzugreifen wären, also für den Kliniker als Pneumokokken nicht in Betracht kämen.

Kurz erwähnt sei noch das Verhalten der anderen geprüften Kokkenstämme: die Meningokokken (Tabelle IV) hatten ihre Wachstumsgrenze teils bei 1:20 000, teils bei 1:10 000, reichen also in das Gebiet der Streptokokken hinein; die meningokokkenähnlichen Stämme und der

Tabelle IV. Meningokokken.

	Optochinverdünnung		
	1:10 000	1:20 000	1:50 000
1.	—	—	+
2.	—	—	+
3.	—	+	+
4.	—	—	+
5.	—	—	+
6.	—	+	+
7.	—	—	+
8.	—	+	+

Tabelle V. Meningokokkenähnliche und *Micrococcus catarrhalis* (No. 5).

	Optochinverdünnung		
	1:5000	1:10 000	1:20 000
1.	—	+	+
2.	—	+	+
3.	—	—	+
4.	—	—	+
5.	—	—	+

Micr. catarrhalis (Tabelle V) nähern sich noch mehr den Streptokokken, indem einzelne bei 1:10 000, andere bei 1:5000 nicht mehr wachsen. Von den Gonokokken (Tabelle VI) zeigte der eine bei 1:50 000.

Tabelle VI. Gonokokken.

	Optochinverdünnung			
	1:10 000	1:20 000	1:50 000	1:100 000
1.	—	—	—	+
2.	—	+	+	+
3.	—	+	+	+
4.	—	+	+	+

die anderen erst bei 1:10 000 kein Wachstum. Bakterienarten also, die in anderer Beziehung: Ansprüchen an den Nährboden, Empfindlichkeit

gegen Hitze, Kälte, Eintrocknen usw. mindestens ebenso empfindlich sind wie die Pneumokokken, werden vom Optochin erst bei höheren Konzentrationen gehemmt. Damit ist gezeigt, daß das Optochin eine elektive Wirkung auf die Pneumokokken ausübt.

Aus unseren Versuchen ergibt sich somit, daß bei einer Optochinverdünnung 1:100000 nur Pneumokokken in ihrem Wachstum gehemmt werden, während alle anderen Kokkenarten, insbesondere alle Streptokokkenstämme, ungehindertes Wachstum zeigen. Die Nutzenanwendung dieses Ergebnisses für die Praxis könnte in der Weise vorgenommen werden, daß man sich eine Verdünnung von Optochin in Ascitesbouillon 1:100000 vorrätig hält und kühl aufbewahrt. Man geht dabei von einer Stammlösung des Optochins in Aqua destill. 1:1000 aus — da es bei höheren Konzentrationen leicht ausfällt — die man mit Ascitesbouillon um das 100-fache verdünnt. Zweckmäßig ist es, erst die reine Bouillon mit der Optochinlösung zu versetzen, das Gemisch bei 100° (im Dampftopf) zu sterilisieren und dann die Ascitesflüssigkeit steril hinzuzufügen.

Daß das Optochin bei längerem Aufbewahren seine hemmende Kraft nicht einbüßt, ging aus einem Versuche hervor, der mit einer 3 Monate alten Optochinlösung und einem *Pneumococcus* angestellt wurde: derselbe ergab das gleiche Resultat wie die frische Lösung.

Zusammenfassung.

1) Pneumokokken und *Streptococci mucosi* werden durch hohe Verdünnungen des Optochins (1:200000 und 1:500000) im Wachstum gehemmt.

2) Streptokokken, Meningokokken, Gonokokken, meningokokkenähnliche Stämme werden erst bei höheren Konzentrationen (1:10000 oder 1:5000) gehemmt.

3) Das Optochin kann daher in einer Verdünnung 1:100000 zur Differenzierung der Pneumokokken und Streptokokken dienen.

4) Vereinzelt finden sich Stämme, die sich bezüglich des Tierversuches und der Blutplatte wie Pneumokokken, dem gallensauren Natrium und Optochin gegenüber aber wie Streptokokken verhalten. Diese Stämme bilden wahrscheinlich einen Uebergang zwischen Pneumokokken und Streptokokken.

Nachdruck verboten.

Ueber Kongorot-Nährböden.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität in Budapest.
(Direktor: Prof. L. v. Liebermann).]

Von Dr. D. Acél,
Assistenten des Instituts.

In No. 51 (Jahrg. 1914) der Deutschen med. Wochenschr. haben L. v. Liebermann und D. Acél zur Unterscheidung, besonders der Typhusbacillen von Coli einen Nährboden beschrieben, dessen wesentlicher Bestandteil das Kongorot ist. Schon damals haben die Verff. die Vorteile dieses Nährbodens betont, die hauptsächlich in dessen Empfindlichkeit gegen säurebildende Bakterien besteht.

K. E. F. Schmitz hat diese Angaben gründlich geprüft und mit zahlreichen Versuchen bestätigt¹⁾. In 116 Fällen (Untersuchung von Kot, Harn usw.) hat Schmitz unsere Platte mit der von Drigalski-Conradi verglichen und gefunden, daß die Verteilung der 62 positiven Befunde, in denen (neben Coli) Typhus, Paratyphus B und Dysenterie festgestellt werden konnten, die folgende war:

auf beide Platten:	28 positive Fälle
nur auf der Drigalski-Conradi-Platte:	6 " "
nur auf der Platte v. Liebermann-Acél:	28 " "

Schmitz hat auch noch andere interessante Mitteilungen gemacht, besonders was die leichtere Erkennung der Kokken anbelangt. In einer neueren Arbeit hat sich Schmitz²⁾ wieder mit unserem Nährboden befaßt, in der Absicht, ihn weiter zu verbessern, und zwar durch Zusatz von Rinderblutserum und Coffein. Ersteres soll die Entwicklung der Typhusbakterien begünstigen, letzteres die der Coli-Bacillen unterdrücken. Wir haben es für der Mühe wert gehalten, die Versuche nachzumachen, besonders darum, weil der Zusatz von Coffein nach den älteren Angaben der einschlägigen Literatur von zweifelhaftem Werte erschien.

I. Versuche mit Serumzusatz.

Schmitz hat in seinen Versuchen einen kurz vorher ausgezüchteten, aber schlecht wachsenden Typhusstamm verwendet. Nach der Beschreibung scheint es aber, daß dieser Stamm nur auf gewöhnlichem Agar schlecht, auf unserem Nährboden aber gut gewachsen war, selbst dann, als das Verhältnis der Typhus- zu den Coli-Keimen in einer Mischung, die Schmitz selbst hergestellt hat, 1:100 000 war (l. c. p. 310. tab. I. 2 V. c.). Auch wir haben bisher keinen Typhusstamm gefunden, der auf unserem Nährboden schlecht gewachsen wäre, obwohl wir schon seit Monaten damit arbeiten. So mußten wir denn den Versuch von Schmitz mit einem gut wachsenden Typhusstamm wiederholen, glauben aber, daß dies den Wert der vergleichenden Versuche nicht beeinträchtigt, denn, wenn der Zusatz von Serum für die Entwicklung des Ty-

1) Deutsche med. Wochenschr. 1915. No. 15.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. H. 4

phus wirklich bessere Bedingungen schafft, so muß das bei dem Vergleich mit der Kontrollplatte (ohne Serum) zu erkennen sein. Die ersten Versuche bezweckten also, zunächst etwaige Unterschiede zwischen der Kongorot-Platte (unserer Platte) und der Kongorot-Serum-Platte festzustellen. Wir verzichteten auf die Mitteilung der Details der genau nach Schmitz ausgeführten Versuche und begnügen uns mit der Mitteilung des Endresultates: daß zwischen den zwei Nährböden kein Unterschied zu erkennen war. Auf beiden wuchsen Typhus- und Coli-Bacillen gleichgut. Nirgends war zu erkennen, daß die Typhusbacillen Coli zurückgedrängt hätten. Auch mit einem anderen Typhus- und Coli-Stamm erhielten wir das gleiche Resultat. Wir können diese abweichenden Resultate nicht erklären; vielleicht spielen Verschiedenheiten der Sera irgendeine Rolle.

II. Zusatz von Coffein.

Schmitz empfiehlt zur Verhinderung der Entwicklung der Coli-Bacillen einen Zusatz von 0,6 Proz. Coffein zu der Serum-Kongorot-Platte. Diese Menge soll genügen, um die Entwicklung der Coli-Bacillen vollständig zu unterdrücken, ohne das Wachstum der Typhusbacillen wesentlich zu beeinflussen. Auch diesen Versuch haben wir wiederholt, aber nicht nur so, daß wir 0,6 Proz. Coffeinum purum zur Serum-Kongorot-Platte zugesetzt haben, sondern auch so, daß wir dieselben Mengen auch bei Herstellung unserer Platte verwendet haben. Das Resultat war, daß nach 24 Stunden auf keiner Platte etwas zur Entwicklung kam, weder Typhus noch Coli. Nach 48 Stunden waren auf beiden Platten einige rot gefärbte Kolonien zur Entwicklung gekommen. Wir haben von diesen drei abgeimpft und eine als Coli erkannt. Die angegebene Coffeinmenge hat also das Wachstum beider Bakterien verhindert, resp. sehr gestört, und es war außerdem zu erkennen, daß der Zusatz von Coffein auch das Erkennen der Säurebildung durch Coli, also die schwarzblaue Färbung verhindert. Es interessierte uns, nachzusehen, welche Coffeinmenge etwa dem von Schmitz gewünschten Zweck entsprechen könnte. Wir haben also unseren Nährboden verschiedene Mengen Coffein zugesetzt, und die eine Hälfte jeder Platte unter Anwendung derselben Typhus- resp. Coli-Stämme, mit Typhus, die andere Hälfte mit Coli bestrichen.

Das Resultat war folgendes:

	Nach 24 Stunden:		Nach 48 Stunden:	
	Typhus:	Coli:	Typhus:	Coli:
Kongorot-Nährboden + 0,3 % Coffein:	schwach gewachsen	schwach gewachsen	schwach gewachsen	stark gewachsen
" " + 0,4 " "	schwach gewachsen	schwach gewachsen	schwach gewachsen	stark gewachsen
" " + 0,5 " "	schwach gewachsen	schwach gewachsen	schwach gewachsen	schwach gewachsen
" " + 0,55 " "	schwach gewachsen	schwach gewachsen	schwach gewachsen	schwach gewachsen
	nicht gewachsen	nicht gewachsen	sehr wenig gewachsen	schwach gewachsen

Zu bemerken ist noch, daß die Mehrzahl der Coli-Kolonien nicht schwarz, sondern rot gefärbt war.

Denselben Versuch haben wir mit einem anderen Typhusstamm wiederholt, den wir 5 Tage vorher aus Blut gezüchtet haben. Der Coli-Stamm war ein frischer, 24-stündiger. Das Resultat war folgendes:

	Nach 24 Stunden:		Nach 48 Stunden:	
	Typhus:	Coli:	Typhus:	Coli:
Kongorot-Nährboden + 0,3 % Coffein:	genügend gut gewachsen	gut gewachsen	gut gewachsen	gut gewachsen
" " + 0,4 " "	schwach gewachsen	genügend gut gewachsen	genügend gut gewachsen	genügend gut gewachsen
" " + 0,5 " "	schwach gewachsen	genügend gut gewachsen	genügend gut gewachsen	genügend gut gewachsen
" " + 0,55 " "	kaum gewachsen	schwach gewachsen	schwach gewachsen	genügend gut gewachsen
" " + 0,6 " "	nicht gewachsen	schwach gewachsen	10 Kolonien gewachsen	schwach gewachsen

Auch auf diesen Platten war der größte Teil der Coli-Kolonien rot geblieben; nur auf kleinen, einzelnen Teilen der Platten waren schwarze Flecke zu sehen. Aus beiden Versuchsreihen mußten wir also den Schluß ziehen, daß unter den gegebenen Bedingungen keine Coffeinkonzentration zu finden war, die das Wachstum der Typhusbacillen unbeeinflusst ließe, das der Coli-Bacillen aber unterdrücken würde. In einem unserer Versuche störte es die Entwicklung beider in gleicher Weise, in einem anderen die des Typhus stärker als die des Coli.

Es soll noch besonders erwähnt werden, daß wir das von uns verwendete Coffeinum purum untersucht und als reines Coffein erkannt haben.

Das Resultat unserer Versuche stimmt übrigens mit jenen, die schon früher von Herberich, Courmont-Lacomme und Birt mitgeteilt wurden¹⁾.

Herberich hat gefunden, daß in Vorkulturen, die nach Hoffmann-Ficker Coffein und Kristallviolett enthielten, nach 13 Stunden nur mehr $\frac{1}{5}$ der ursprünglich vorhandenen Typhusbacillen zugegen war. Courmont-Lacomme hat unter 11 Stämmen 4, Birt unter 31 26 gefunden, deren Wachstum durch Zusatz von Coffein ebenso oder noch stärker verhindert wurde, wie das Wachstum der Coli-Bacillen.

Wenn mit den von Hoffmann-Ficker empfohlenen Vorkulturen in gewissen Fällen gute Erfolge zu erzielen sind, so ist das — wie wir glauben — nicht allein dem Coffein zuzuschreiben, sondern auch dem Kristallviolett, und der genau vorgeschriebenen Alkalinität der Flüssigkeit²⁾.

Wollte man aber, trotz der nachgewiesenen Nachteile, das Coffein

1) Zit. nach Kolle-Wassermann. Bd. 3. p. 747.

2) Zit. nach Kolle-Wassermann. Bd. 3. p. 746.

bei der Herstellung unserer Platte doch verwenden, so müßte man auch noch mit einem besonders großen Fehler rechnen, der das von uns empfohlene Kongorot fast illusorisch macht. Das Coffein verhindert nämlich in beträchtlichem Maße oder auch ganz das Erkennen der Säurebildung; die Coli-Kolonieen, wenigstens ein großer Teil derselben, wachsen rot, nicht schwarz, wie es sein soll; was übrigens auch Schmitz erfahren hat¹⁾. Der Vorteil unserer Platte besteht eben darin, daß man zwischen den schwarz gefärbten Coli-Kolonieen die rot oder rötlich gefärbten Kolonieen anderer Bakterien scharf erkennen kann.

Daß das Coffein die Empfindlichkeit des Kongofarbstoffes gegenüber Säuren stark herabsetzt, zeigt folgender Versuch:

Setzt man zu 10 ccm destillierten Wassers 5 Tropfen einer etwa 1-proz. Kongorotlösung, so genügen 3 Tropfen einer 1:1000 verdünnten Lösung von (75-proz.) Milchsäure, um die Farbe bläulich-violett zu machen.

Setzt man aber dieselbe Menge Kongorot zu 10 ccm einer 0,6-proz. Coffeinlösung, so hat man von derselben Säure nicht 3, sondern etwa 35 Tropfen zuzusetzen, um denselben Farbenumschlag zu erhalten. Diese Coffeinmenge hat also die Empfindlichkeit des Kongo etwa um das Zwölfte vermindert.

Aus all diesen Versuchen folgt, daß zu dem Kongorot-Nährboden weder ein Zusatz von Serum, noch von Coffein empfohlen werden kann. Wir empfehlen, den Kongorot-Nährboden nach der ursprünglichen Vorschrift von L. v. Liebermann und D. Acél²⁾ zu bereiten, mit dem wir auch seither, ebenso wie Schmitz, gute Erfolge erzielten.

1) l. c. p. 311 u. 313.

2) Deutsche med. Wochenschr. 1914. No. 51.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

- Acél, D.**, Ueber Kongorot-Nährböden, p. 204.
- Gregersen, J. P.**, Untersuchungen über die desinfizierende Kraft der desinfizierenden Stoffe im Verhältnis zu ihrer Konzentration, p. 168.
- Hase, Albrecht**, Weitere Beobachtungen über die Läuseplage, p. 152.
- Ickert, Franz**, Ueber eine Fleischvergiftungsepidemie durch Bacillen der Gärtner-Gruppe (Rattenschädlinge), p. 142.
- Kleine, P.**, Versuche zur Vertilgung von Zieselmäusen mittels Ratin, p. 165.
- Maresch, Rudolf**, Zur Kenntnis der durch fusiforme Bacillen bedingten pyämischen Prozesse, p. 130.
- Minder, Leo**, Ueber morphologische und tinktorielle Besonderheiten bei Tuberkelbacillen vom Typus gallinaceus, unter spezieller Berücksichtigung der Granula, p. 113.
- Nachmann, Gertrud**, Die Differenzierung der Pneumokokken und Streptokokken durch Optochin, p. 198.
- Papamarku**, Beiträge zur Serodiagnostik des Fleckfiebers, p. 186.
- Sikora, H.**, Bemerkungen zu der Arbeit: „Zur Bekämpfung der Kleiderläuse“ von Dr. A. Zucker in Heft 4. Bd. 76 dieser Zeitschrift, p. 163.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 77. Heft 3.

Ausgegeben am 29. Dezember 1915.

Nachdruck verboten.

Einige neue Bakterien.

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“.]

Von Prof. Dr. E. Zettnow, Berlin.

Hierzu 2 Tafeln mit 74 Photogrammen.

Bei der Untersuchung von Kolonien, deren Keime aus der Luft auf Agarplatten gefallen waren, habe ich die unten beschriebenen 5 neuen Mikroorganismen gefunden; ich habe sie wenigstens mit keinem der in Migulas und Matzschitas Werken aufgeführten Bakterien identifizieren können. Ich bin gern bereit, Kulturen abzugeben und habe solche auch der Králschen Sammlung übersendet.

Einige Vorbemerkungen.

Da ich seit vielen Jahren den von mir angegebenen Spirillenagar ohne Zusatz von 0,1 Proz. Ammoniumsulfat und Kaliumnitrat bereite, so bemerke ich im voraus, daß überall, wo im folgenden von Spirillenagar oder Spirillengelatine die Rede ist, die betreffenden Nährböden nur aus Fleischwasser resp. als Ersatz desselben aus 0,5-proz. Fleischextraktlösung unter Beigabe von 0,1 Proz. Pepton mit Hilfe von 1,25—1,5 Proz. Fadenagar oder 10—12 Proz. Gelatine bereitet wurden; die Reaktion des fertigen Nährbodens soll neutral oder eine Spur alkalisch sein. Sollte stärkere alkalische oder saure Reaktion für Versuche erforderlich sein, so ist eine solche durch Zugabe von 1 Tropfen steriler 10-proz. Soda-lösung oder einer Spur fester Zitronensäure zu dem geschmolzenen Nährboden leicht zu erzielen.

Die Angaben über Breite und Länge der Bakterien beruhen auf Messungen an Photogrammen in genau 1000-facher Vergrößerung, und zwar an kräftig kopierten Positiven auf Celloidinpapier; ich habe mich überzeugt, daß die durch die Behandlung des Papiers mit den wässrigen Flüssigkeiten bedingten Verziehungen für diese Messungen ohne Bedeutung sind. Es wurden zur Feststellung der Fehlergrenzen auf der Rückseite des Celloidinpapiers 2 haarfeine Bleistiftstriche in genau 50 mm Entfernung in Längs- und Querrichtung gezogen und nach dem Fertigstellen der Kopie ihre Entfernungen wieder gemessen. In der Längsrichtung waren nun die beiden Linien 49,5 mm voneinander entfernt; in der Querrichtung 50,0 und 50,25 mm. Die Verziehung überschreitet also nicht 1 Proz. und beträgt, auf die Breite eines großen Bacillus von 2,0 mm berechnet, höchstens 0,02 mm; fällt also unter die Messungsfehler. Zum Ausmessen habe ich einen in Fünftelmillimeter geteilten Maßstab, und zwar ein Kollodiumphotogramm auf Glas, gebraucht. Legt man diesen Maßstab auf die Bakterienbilder des Positivs, setzt eine Stativlupe mit 6-facher Vergrößerung darauf, so kann man eine ganze Reihe von Bakterien bis auf 0,1 mm, entsprechend 0,1 μ in natürlicher Größe, genau und bequem ausmessen; auch die Messung in späterer Zeit wiederholen. Meist wurden 8—12 Exemplare ausgemessen.

Da die Breite auch vom Ernährungszustand sowie von der Konzentration des Nährbodens abhängt und manche Arten von großen Stäb-

chen, vollgepfropft mit Reservestoffen, oft bauchig aufgetrieben erscheinen, ohne anormal zu sein, so ist eine größere Genauigkeit als 0,1 mm auch nicht notwendig. Viel stärker sind bekanntlich die Veränderungen, welche die Bakterien beim Antrocknen und Einlegen in Kanadabalsam durch Schrumpfung erleiden. Ich habe, um eine vergleichende Uebersicht zu erhalten und die Schwankungen in der Breite unter verschiedenen Umständen festzusetzen, A. den *Bacillus tumescens* als eins unserer größten Stäbchen und B. das *Spirillum volutans*, also 2 seit Jahrzehnten auf unserem gewöhnlichen Agar gezogene Arten, benutzt.

A. *Bacillus tumescens*.

Material aus einer 20-stündigen, nur aus Sporen bei Zimmertemperatur auf Spirillenagar entstandenen Kultur, deren Stäbchen sich sämtlich in Teilung befanden und frei waren von sichtbaren Körnchen, wurde in einem kleinen Tropfen Wasser verteilt, durch Zusatz von einer Oese 1-proz. Osmium abgetötet, damit die Bakterien sich schnell und gleichmäßig färben, und von diesem Material hintereinander 6 Präparate hergestellt und photographiert.

1) Nasses Fuchsinpräparat: Zu einem Tropfen wässriger Fuchsinlösung 1 Oese der Bakterienaufschwemmung gesetzt; darauf ein Deckglas gelegt und dies mit Vaseline umrandet. Fast alle Exemplare 1,8 mm breit, selten 1,85 mm.

2) Das Material wurde ausgestrichen; so lange getrocknet, bis die Ränder etwas trocken erschienen; dann Fuchsin und Verschuß mit Vaseline. Mehrzahl 1,6 mm, einzelne 1,5 mm.

3) Das angetrocknete Material durch Flamme fixiert; dann Fuchsin und in Wasser liegend verschlossen. Breite 1,6—1,55 mm.

4) Wie 3), jedoch in Kanadabalsam eingelegt. Breite 1,4—1,5 mm.

5) Gewöhnliches, stark gebeitztes Geißelpräparat dieses Materiales, in Wasser liegend photographiert. Breite 1,8 mm fast ohne Ausnahme.

6) Wie 5), jedoch in Kanadabalsam eingelegt. Breite 1,75—1,8 mm.

7) Ferner war dasselbe Sporenmaterial auf gewöhnlichem, mäßig alkalischem Agar ausgesät und wurde nach 20 Stunden zu einem Präparat wie bei 1) benutzt. Breite 1,4—1,6 mm.

8) Diese Kultur auf gewöhnlichem Agar zeigte 24 Stunden später fast lauter mit körnigem Inhalt versehene Stäbchen; in einem Präparat wie 1) betrug die Breite meist 2,1—2,3 mm, bei einzelnen 2,0 und 2,5 mm.

9) Die Kultur auf Spirillenagar zeigte nach 68 Stunden gleiche Stäbchen wie bei 8) und fing an, Sporen zu bilden; im nassen Fuchsinpräparat betrug die Breite der Stäbchen 2,0—2,2 mm, ausnahmsweise bei einem Stäbchen 2,3 mm.

Resultate dieser Versuche: Die Breite des durch Fuchsin gefärbten Bakterienanteiles, in Wasser liegend, wird durch einmaliges Antrocknen von 1,8 Präparat 1 auf etwa 1,57 = 87 Proz. Präparat 2 und 3 vermindert; das Einlegen in Kanadabalsam bedingt eine Schrumpfung bis auf 1,45 mm = 80 Proz. Präparat 4. Am auffälligsten ist die geringe Breite und das Schwanken derselben bei dem Material von der jungen, jedoch gut angegangenen Kultur auf gewöhnlichem Agar, Präparat 7; falls man als Mittelwert 1,5 mm annimmt, ist sie auf 83 Proz. gesunken. Da bei weiterem Verweilen auf demselben Nährboden die Breite jedoch zunimmt, ebenso wie diejenige der Stäbchen bei längerem

Verweilen auf dem Spirillenagar, und schließlich auf beiden Nährböden die mit körnigem Inhalt erfüllten Zellen keinen auffallenden Unterschied in der Breite mehr zeigen, Präparat 8 und 9, so kann die geringere Breite in diesem Fall wohl die Folge schneller Teilung und dadurch bedingter Streckung der Stäbchen sein. Ob Bacillen, deren Breite 2,5 mm beträgt, noch normal sind, lasse ich dahingestellt sein; als sicher kann man annehmen, daß die Breite von verschiedenen Umständen abhängt und bedeutenden Schwankungen unterliegt; sowie ferner, daß man von einer normalen, innerhalb enger Grenzen schwankenden Breite nicht sprechen kann.

Die Geißelpräparate, selbst wenn sie kräftig gebeizt und gesilbert sind, zeigen sowohl in Wasser liegend wie in Kanadabalsam eingebettet dieselbe Breite, Präparat 5 und 6; sie ist nicht größer als bei Färbung des Materiales mit Fuchsin, Präparat 1, obgleich nun auch das Ektoplasma, mithin das ganze Bakterium, gefärbt ist. Man kann daher wohl den Schluß ziehen, daß dieser Bacillus nur ein schwaches Ektoplasma besitzt, sowie daß die Schrumpfung beim Trocknen und Fixieren durch die Flamme, Präparat 3, bei dem Geißelpräparat durch die Färbung des Ektoplasmas wett gemacht wird. Daß die Breite beim Einlegen in Kanadabalsam fast dieselbe bleibt, wie im Wasser, hat wohl darin seinen Grund, daß die leicht quellbare und ebenso leicht schrumpfende Masse des Bacillenleibes mit festen, diese Fähigkeit aufhebenden, mindestens stark hindernden Silberteilchen angefüllt ist; das aus schleimiger Masse bestehende Bakterium ist in ein aus Silber bestehendes umgewandelt. Ich füge hinzu, daß die Antimonbeize, obgleich in chemischer Hinsicht sicherer wirkend, als die von Loeffler und bei allen Bakterien wirksam, doch die Geißeln, resp. das Ektoplasma nicht so stark überfärbt, wie jene.

Man kann aus den Messungen bei Präparat 1 und 5 schließen, daß der *Bacillus tumescens* ein sehr schwaches Ektoplasma besitzt, z. B. im Vergleich zum *Cholera vibrio*; von letzterem habe ich 2 Photogramme des Stammes 27 im Klinischen Jahrbuch. Bd. 11. auf Taf. I zu einer Arbeit von Kolle: „Ueber den jetzigen Stand der Choleradiagnose“ veröffentlicht und jetzt die Breiten ausgemessen; beide Präparate lagen in Kanadabalsam; es beträgt die Breite bei Färbung mit Fuchsin 0,4 mm; im Geißelpräparat steigt sie auf 1,5—1,6 mm. Auch in Migulas Werk Teil I. Taf. III. Fig. 1—3 sieht man ähnliche Formen von Vibrionenarten; letztere besitzen eben ein sehr starkes, erst durch die Färbung sichtbar gemachtes Ektoplasma und sind nicht, wie man vor 20 bis 25 Jahren sagte, durch die Beize „gequollen“.

B. *Spirillum volutans*.

Mit sehr wenig Material aus frischer Kultur beimpfte Röhrchen waren nach 44 Stunden genügend entwickelt, um die Präparate herzustellen.

No. 1 von gewöhnlichem Agar; das mit Osmium abgetötete, mit Fuchsin gefärbte, in Wasser liegende Material zeigte eine Breite von 1,3—1,5 mm bei einer Länge von 3,5—4 mm bei eben abgetrennten, und von 6—7 mm bei noch zusammenhängenden Formen.

No. 2, auf neutralem Spirillenagar gewachsen, zeigte meist etwas geringere Breite, 1,1—1,3 mm, übertraf jedoch die No. 1 mit 4—5 mm bei einfachen und 10—11 mm bei sich teilenden Formen an Länge; präpariert wie No. 1.

No. 3, gewöhnliches Trockenpräparat von Material wie bei No. 2; fast alle Spirillen zeigten eine Breite von 1,0 mm; ausnahmsweise wurde ein Spirillum von 1,15 mm gefunden.

No. 4, Geißelpräparat vom Material wie bei 2, in Wasser liegend: 1,6—1,7 mm breit, bei 9—10 mm Länge.

No. 5. Das Präparat 4 nach der photographischen Aufnahme in Kanadabalsam eingelegt: Breite 1,6—1,65 mm.

Spirillum volutans zeigt also, auf Spirillenagar gewachsen, etwas geringere Breite als auf alkalischem, gewöhnlichem Agar; durch das Trocknen schrumpft es auf 83—84 Proz., falls man 1,2 mm als Durchschnittsbreite annimmt; die Beizung erhöht seine Breite beinahe um 35 Proz. Bei Geißelpräparaten ist die Breite bei Einbettung in Wasser oder Kanadabalsam kaum eine verschiedene.

Aus diesen Messungen kann man also den Schluß ziehen, daß die Breite bei den Bakterien in ziemlich bedeutendem Maße schwankt, je nach dem benutzten Nährboden und dem Ernährungszustand; die Grenzen dieser Schwankungen wird man am ehesten durch Züchtung auf verschiedenen, ihnen zusagenden Nährböden feststellen.

Beschreibung der 5 neuen Bakterien.

I. *Bacterium racemosum*.

Auf einer Blutagarplatte nach Dieudonné, welche etwa 4 Wochen bei Zimmertemperatur gestanden hatte, befand sich neben anderen auch eine Kolonie dieses Bakteriums, und zwar in Reinkultur, wie eine Aussaat auf Gelatineplatte feststellte. Beim Mikroskopieren der Originalkolonie wurden neben geraden Stäbchen und kurzen, einfachen Fäden auch viele schön verzweigte, etwas längere Fäden gefunden, wie solche die Fig. 1 und 2 zeigen, ferner durch geringe Färbung als abgestorben erkennbare Verzweigungen.

Da derartige Bildungen oft von geringen Nebenumständen abhängen, wurden auf der ursprünglichen Platte, auf welcher noch reichlich Platz war, einige Ausstriche sowie Tupfkolonieen gemacht, um zu erfahren, ob die Verzweigungen sich wieder bilden würden. 6 Tage später waren die Ausstriche wie die Kolonieen zu einem 5—6 mm breiten Brei herangewachsen, der in der Mitte schmutzig rotbraun, an den Rändern grünlich erschien; die letzteren enthielten nur kurze Stäbchen, die Mitte etwas längere Verbände; am 8. Tage wurden die ersten Knospen an kleinen Fäden beobachtet; einige Tage später deutliche Verzweigungen; auch ein am 40. Tage von diesen Aussaaten angefertigtes Präparat zeigte sowohl kurze Stäbchen und kleine Fäden in den Randteilen, wie längere, gut verzweigte Formen nebst abgestorbenen in der Mitte.

Es lag nahe, dies Bakterium als eine *Streptothrix* anzusehen; dieser Annahme widerspricht jedoch die Art seines Wachstums auf verschiedenen Nährböden. Nicht nur auf Blutagar, sondern auch auf gewöhnlichem Agar und Gelatine sowie auf Kartoffel wächst dieser Organismus wie ein echtes Bakterium als schleimiger Brei, der sich in Wasser leicht verteilt; er dringt niemals in den Nährboden ein wie eine *Streptothrix*, ebenso wenig macht er ein Luftmycel mit Konidien. Er erhält seine Stelle im System wohl am besten bei der von Lehmann und Neumann eingeführten Gruppe der Mykobakterien und verdient seinen Beinamen *racemosum* mit Recht, da er, wie spätere Versuche zeigten, nicht nur auf Blutagar, sondern auch auf Loeffler-

schem und gewöhnlichem Rinderserum Verzweigungen bildet; dazu kommt, daß letztere, wenn auch nicht mehr ganz normal, doch bedeutend weniger den Eindruck von Involutionsformen hervorrufen, als dies bei den übrigen Vertretern dieser Gruppe der Fall ist.

Anzeichen, daß von den Fäden Seitenzweige sich ablösen und weiter wachsen, habe ich in den Präparaten nicht gefunden; eher kann man annehmen, daß sie absterben, denn es liegen häufig kräftig gefärbte Verzweigungen inmitten solcher, welche, als abgestorben, sich nur schwach gefärbt haben, wie z. B. in Fig. 4; aus einem mit Fuchsin gefärbten Trockenpräparat.

Während sich bei einem solchen nassen oder trockenen, mit Fuchsin gefärbten Präparat, der Färbung nach zu urteilen, nur ein geringer Teil des Materiales als im Untergang begriffen erweist, gestattet die Färbung nach Gram einen viel besseren Einblick in das allmähliche Absterben bei Verwendung desselben Materiales. Wenn das Präparat zu wiederholten Malen mit 90—95-proz. Alkohol einige Minuten lang behandelt wird, so bleiben alle lebenskräftigen Formen, kurze, lange oder verzweigte, tief blau gefärbt; der Rest zeigt hellere, schließlich ganz schwache Färbung; bei den längeren Fäden erkennt man leicht Körnchen und kleine Klumpen, welche verschieden stark gefärbt in der fast ungefarbten Leibessubstanz liegen. Im Präparat einer jungen, etwa 20-stündigen Agarkultur dagegen trifft man nur blauschwarz gefärbte Stäbchen an.

Die Bildung der verzweigten Formen hängt von der Alkalität des Blutagars ab; sie geht daher bei Benutzung derselben Bereitung dieses Nährstoffes auf der schrägen Oberfläche im Röhrchen nicht mit derselben Sicherheit, resp. Schnelligkeit von statten, wie auf der Platte, und bleibt bei Benutzung neu bereiteten Nährbodens mitunter längere Zeit aus, oder stellt sich umgekehrt alsbald ein; es vergingen z. B. 15 Tage, ehe verzweigte Formen im Röhrchen beobachtet wurden, während sie auf der Platte derselben Bereitung schon am 7. Tage sich zeigten; auch trat nach Hinzufügung von 1 Tropfen 10-proz. Ammoniak zu dem Inhalt eines Röhrchens wegen zu starker Alkalität kein Wachstum ein; nach dem Verjagen des Ammoniaks durch Einstellen in den Dampftopf während einer Stunde fand nach neuer Beimpfung die Bildung von Fäden und verzweigten Formen schon in 5 Tagen statt. Die kürzeste Zeit, in welcher ich die Bildung von Fäden mit deutlicher Knospenbildung beobachtet habe, hat 3 Tage betragen; vgl. Fig. 3; am 7. Tage waren in diesem Falle ziemlich große Mengen von guten Verzweigungen vorhanden. Es empfiehlt sich daher, den frisch bereiteten Blutagar nach dem Mischen des Agars mit dem alkalisierten Blut noch 30—40 Minuten in den Dampftopf zu stellen.

Vor der Bildung der verzweigten Formen treten regelmäßig glatte, kurze Fäden auf, deren Menge zunimmt; hierauf treten an ihnen kleine Ausbuchtungen oder Knospen auf, die an Anzahl und Länge zunehmen und schließlich die fertige Verzweigungsform bilden.

Auch bei Aussaat einer Agarkultur, erhalten durch Ausstrich einer Kolonie auf Gelatine, wurden sowohl auf Blutagar wie auf Loefflerschem Serum verzweigte Formen erhalten; auf letzterem wurden sogar schon am 4. Tage nach Aussaat fast nur Fäden beobachtet, von denen eine geringe Anzahl eben beginnende Knospen zeigte; doch schreitet die Bildung gut verzweigter Formen auf diesem Nährboden nicht so schnell fort, wie man bei dem Fehlen von kurzen Bakterien geneigt ist,

es anzunehmen; nachdem am 6. und 7. Tage einige deutliche Verzweigungen gebildet waren, wurden vom 8.—15. Tage solche kaum angetroffen; am 22. zeigte die Kultur nur kurze, etwas dicke Fäden.

Die Verzweigungen blieben aus auf schwach, stark und sehr stark alkalischem Agar (1,5, 3 und 6 g Soda pro Liter über den Neutralpunkt), sowohl gewöhnlichem wie Spirillenagar; auch nachdem diese Kulturen ein Alter von 3 Monaten erreicht hatten.

Da verzweigte Formen bei *Spirillum volutans* und *rubrum* bekannt sind, ferner *Bacillus cohaerens* nach A. Meyer-Gottheil Neigung hat, sich zu verzweigen, wurden diese 3 Arten als Tupfkolonien auf Blutagar geimpft; sie gediehen so schlecht auf ihm, daß neues Material zur Untersuchung nicht gewonnen wurde; ebenso wenig entwickelten sich Tupfkolonien vom Timothee-Gras- und einem säurefesten *Bacillus* in 14 Tagen; die letzteren Versuche beweisen zugleich, daß das *Bacterium racemosum* von ihnen verschieden ist.

Die Breite der Fäden von der Originalkolonie beträgt 0,5—0,6 μ , bei 10—12 μ Länge; die gleiche Breite besitzen die Fäden einer auf frischem Dieudonné-Agar gewachsenen 3—4-tägigen Kultur; am elften waren sie häufig etwas gequollen und zeigten 0,5—0,8 μ Breite; die etwas kolbigen Fäden von einer 3-tägigen Kultur auf Loeffler-Serum besaßen meist 0,7 μ Breite, die kolbigen Enden 0,9 μ ; die Länge überschritt selten 10—12 μ . Auch auf Kartoffel und gewöhnlichem Agar beträgt die Breite meist 0,5 μ , wenn auch Stäbchen von 0,45 und 0,6 μ vorkommen; auffallend ist die geringe Länge auf diesen Nährböden; sie übersteigt bei einer 2-tägigen Kartoffelkultur kaum 3 μ und bleibt in einer 36 Stunden alten Agarkultur meist unter 1,5 μ ; daher erscheinen die Stäbchen einer solchen Kultur wie Zwerge gegenüber den verzweigten Formen. Obige Angaben beziehen sich auf Fuchsinpräparate in Kanadabalsam; im nassen Fuchsinpräparat wird daher die Breite 15—20 Proz. größer sein.

Anilinfarben werden leicht aufgenommen.

Die Färbung nach Gram fällt positiv aus.

Bei Aussaat auf die Oberfläche von gewöhnlicher Gelatine werden die Kolonien erst am 3. Tage dem bloßen Auge sichtbar bei 0,1—0,16 mm Durchmesser; unter dem Mikroskop erscheinen sie glattrandig, ziemlich grobkörnig und von zarter, rein bräunlicher Farbe; einen Tag später machen sich bei 0,6—0,7 mm Durchmesser der Kolonien die Anzeichen von Verflüssigung bemerkbar; die Bakterienmasse sieht dunkel-gelblich-braun, aus und viele Kolonien erscheinen wie aus einzelnen, kleinen Ballen zusammengesetzt; wiederum nach 24 Stunden ist die Verflüssigung fortgeschritten, ohne auch nach mehreren Tagen umfangreich zu werden; auf dem Boden liegt schließlich eine in auffallendem Licht gelbliche, in durchfallendem dunkelbraune Bakterienmasse, ohne sich in der verflüssigten Gelatine verteilt zu haben.

Die Kolonien in der Tiefe sind von Anfang an dunkler, jedoch von demselben Farbenton wie die oberflächlichen; bei ihnen ist die Bildung von kleinen Ballen so stark, daß der Rand ein wenig gebuchtet erscheint; 6 Tage nach der Aussaat haben sie, je nach der Tiefenlage, 0,25—0,32 mm Durchmesser.

Im Strich auf Gelatine bildet sich ein weißer Rasen, welcher nach 3—4 Tagen, entsprechend seiner Masse, die Gelatine verflüssigt und in der gebildeten Rinne herabfließt.

Im Stich geht er unter Verflüssigung der Gelatine hauptsächlich

an der Oberfläche an; auch nach 14 Tagen ist er bei ganz verflüssigter Oberfläche nicht tiefer als 3—4 mm angegangen.

Auf Spirillenagar ist der Strich hellgelb und breitet sich nur wenig aus, ebenso auf gewöhnlichem Agar, auf welchem die Farbstoffbildung größer ist.

Auf neutralem Lackmusagar und ebensolchem mit Zusatz von Traubenzucker ausgesät, verändert er die Farbe allmählich in Blau, so daß am 11. Tage nur noch die untersten Teile im Röhrchen die neutrale Farbe zeigen; er macht also aus Dextrose keine Säure, resp. mehr Alkali als Säure; der Rasen ist kräftig gelb, glänzend, und verteilt sich leicht im Wasser.

Neutralrotagar, im Strich mit ihm beimpft, wird in 5—6 Tagen entfärbt, entsprechend seiner Fähigkeit, Alkali zu bilden und Dextrose nicht anzugreifen; in Schüttelkultur dieses Agars jedoch wird die Farbe auch nach reichlicher Einsaat, selbst nicht an der Oberfläche, verändert; eine Entwicklung von Kolonien wurde auch nicht beobachtet. Der Strich auf diesem Nährboden sieht matt, wie gekörnt aus und besteht aus so fest verkitteten Bacillen, daß sie sich in Wasser nur durch kräftigen Druck zerteilen lassen; die Färbung mit Fuchsin zeigte, daß sie unverzweigt waren und aus ziemlich schlanken, mittellangen Fäden und kurzen Stäbchen bestanden.

Auf Kartoffel geht er zögernd, meist erst nach 7—8 Tagen an, trotz reichlicher Aussaat; jedoch schon nach 2—3 Tagen, falls die Oberfläche der Kartoffel durch kohlen-saures Ammon alkalisiert ist; die in den ersten 6 Tagen zartgelbe Farbe wird bis zum 13. kräftiger, bleibt aber schmutziggelb; die Oberfläche des Rasens ist matt und sehr fein gekörnt.

Sterile Milch wird kaum verändert; 4 Wochen nach Einsaat hatte sie eine rosagelbe Farbe angenommen.

Auf Rinderseum bildet er in 4 Tagen eine deutlichgelbe Auflagerung, aus 2—5 μ langen Bakterien bestehend; nach 8 Tagen findet man in dem etwas stärker gelb gefärbten Rasen auch etwas längere Fäden, selten solche mit Knospen; auch nach 3 Wochen sind Verzweigungen nicht sicher beobachtet.

Auf Loeffler-Serum gewachsen, besteht die zartgelbe Kultur am 3. Tage der Hauptmasse nach aus kurzen Fäden; am 6. Tage findet man mitunter gute Verzweigungen, meist nur Knospen; die Bildung schöner Verzweigungen schreitet nicht fort; man findet später am 18. und 20. Tage nur kurze, etwas gequollene Stäbchen.

Zur Prüfung, ob vielleicht *Bacillus cohaerens* und *tumescens* auf Loeffler-Serum verzweigte Fäden bilden, wurden sie auf diesen Nährboden übertragen; beide gedeihen auf ihm sehr gut. *Bacillus cohaerens* zeigte in den ersten 9 Tagen gut bewegliche Stäbchen und kleine Verbände; später unbewegliche, sehr lange Fäden, zum Teil mit Körnchen erfüllt; im Alter von 3 Wochen war der Nährboden halbflüssig geworden und nach unten gesunken; nach Verzweigungen wurde vergeblich gesucht; dasselbe negative Resultat wurde bei *Bacillus tumescens* erhalten; er hatte den Nährboden noch stärker, schon vom 8. Tage an, verflüssigt.

Auf Agar, hergestellt mit künstlicher Nährlösung, bestehend aus 0,2 Proz. Kaliumphosphat in Leitungswasser, gedeiht er nicht; geht jedoch nach Hinzufügung von 0,5 Asparagin auf ihm, wenn auch zögernd, an; die Stäbchen zeigen ein gekörntes Aussehen.

Er gedeiht nicht bei 37°, wächst gut bei Temperaturen von 15—28°.

Sporenbildung wurde nicht beobachtet. Neutraler Lackmusagar, versetzt mit Dextrose, Maltose, Mannit, Rhamnose, Saccharose, wird allmählich von oben nach unten gebläut; jedoch dauert es meist 3 Wochen, ehe die alkalische Reaktion bis zum Boden vorgedrungen ist; Neutralrotagar wird von ihm langsam entfärbt.

II. *Micrococcus sensibilis*.

Eine schmutzigweiße Luftkolonie auf Agar erwies sich als ein Gemisch von dem Anschein nach lebhaft beweglichen Kokken und Bacillen; letztere sehr schmal und zart, wurden erst bei genauem Zusehen als bewegliche Stäbchen erkannt. Nach Gewinnung von Reinkulturen durch Ausstrich auf Spirillenagar zeigten beide Organismen kräftige Bewegung; besonders die Kokken ergaben, in ein Tröpfchen Wasser übertragen und mit Deckglas versehen, ein Durcheinanderwirbeln der einzelnen oder in kleinen Verbänden befindlichen Bakterien, wie man es sonst nur bei Vibrionen zu sehen gewohnt ist; ein nasses, mit Fuchsin gefärbtes Präparat stellte mit Sicherheit fest, daß es sich wirklich um Kokken handelte; bei solchen hatte ich eine derartig lebhafte Bewegung, ähnlich wie bei einem Mückenschwarm, bisher noch nicht beobachtet. Während die sogleich angefertigten Geißelpräparate bei den Bacillen seitenständige Geißeln ergaben, brachten diejenigen der Kokken große Enttäuschung. Weder die ersten 3, in gewöhnlicher Weise hergestellten Präparate ließen eine Spur von Geißeln erkennen, noch die folgenden, bei welchen das Material vom Agar direkt in Osmium verschiedener Stärke 1:1000 bis 1:200 gebracht und der Ausstrich in 15 Sekunden getrocknet war; zwar schien es bei den letzteren, als ob an einzelnen, nicht häufigen Stellen kleine, geradlinige, ziemlich dicke Fäden als veränderte Geißeln gedeutet werden konnten; Sicherheit für diese Annahme war jedoch auch nach langem Absuchen der Präparate nicht vorhanden.

Da ich mich bisher begnügt hatte, vor Herstellung der Ausstriche für die Geißelfärbung einen kurzen Blick auf ein lebendes Präparat (3 Oesen Wasser, dazu eine Spur der Kultur und ein Deckglas aufgelegt) zu werfen, um mich vom Schwärmen der Kokken zu überzeugen, so ging ich nun dazu über, einen hängenden Tropfen herzustellen und die Bewegung längere Zeit zu studieren; schon nach 2 Minuten war ein deutliches Nachlassen in der Lebhaftigkeit der Bewegung zu erkennen; nach 3—4 Minuten hatte sie aufgehört. Nicht viel anders vollzog sich das Aufhören des Schwärmens, als zur Herstellung des hängenden Tropfens 0,1- und 0,25-proz. Kochsalzlösung benutzt wurde; auch als das Quetschwasser in Gestalt des hängenden Tropfens benutzt wurde, erlosch die Bewegung in 4—5 Minuten. Bedeutend länger schwärmten die Kokken dagegen, allerdings bei späteren Versuchen, in einem Tropfen, welcher dem Quetschwasser einer Kultur auf künstlichem Nährsalz mit 0,5 Proz. Asparagin entnommen war; hier wurden noch nach 20 Minuten lebhaft bewegliche Kokken beobachtet. Geißelpräparate mit Material von letzterem Nährboden ergaben trotzdem keine besseren Resultate, als die früher angefertigten.

Aus diesen Versuchen konnte mit Sicherheit der Schluß gezogen werden, daß die Geißeln vom Osmium nicht genügend fixiert werden und vor dem Antrocknen verquellen oder sich völlig auflösen. Der Untergrund in diesen Geißelpräparaten war auch an denjenigen Stellen, an welchen die Kokken in Menge lagen, klar und nicht unsauberer, als bei Benutzung anderer Bakterien.

Sollten die Geißeln zur Darstellung gebracht werden, so mußte ein Stoff gefunden werden, welcher das Verquellen hinderte. Als solche adstringierenden Mittel habe ich ohne Erfolg Tannin und Chromalaun versucht; fand jedoch im passend verdünnten Aluminiumsulfat und bei gleichzeitiger Verwendung von Sublimat als Fixierungsmittel sowie unter Vermeidung von Wasserspülung ein Verfahren, welches das erste gelungene Geißelpräparat lieferte. In diesem konnten an einigen Stellen ungeheure Mengen zarter, abgerissener Geißeln, sowie auch eine Anzahl gut begeißelter Kokken beobachtet werden. Für ein ordentliches Photogramm, welches die Geißeln dunkel auf weißem Untergrunde zeigen soll, war dieses erste Präparat jedoch nicht kräftig genug; einige Versuche, das aus Silber bestehende Bild auf photographischem Wege zu verstärken, wie solches bei dem Silberbild einer nassen Kollodiumplatte üblich ist, zeigten, daß dies sich gut ermöglichen ließ, ohne daß die Geißeln zu stark angefärbt und unschön erscheinen (vgl. Fig. 8—17).

Die Anfertigung eines Geißelpräparates vom *Micrococcus sensibilis*, welchen Beinamen er mit Recht verdient, oder von anderen kleinen Bakterien mit zarten Geißeln vollzieht sich also in folgender Weise:

1) Man überzeugt sich, daß die 1—2-tägige, gut angegangene Kultur auf Spirillenagar lebhaft schwärmende Bakterien enthält.

2) Ein frisch ausgeglühtes Deckglas faßt man mit der Cornet-Zange an einer Ecke an und bringt 2 Oesen Leitungswasser darauf; dann berührt man die Kultur mit einem feinen, etwa 0,3 mm dicken, oben etwa 1 mm rechtwinklig umgebogenen Platindraht, taucht hierauf die Spitze in das Wasser auf dem Deckglase leicht ein und läßt den Bakterien 10—15 Sekunden Zeit, ihre Geißeln zu gebrauchen und umherzuschwärmen. Hierauf läßt man mit einer ausgezogenen Glasröhre 2—3 Tropfen Fixierungsflüssigkeit, bestehend aus einem Gemisch von 30 ccm Aluminiumsulfat 1:500 und 10 ccm wässriger Sublimatlösung 1:20 darauf fallen, hält alsdann das Deckglas senkrecht, so daß die Flüssigkeit abtropft, und entfernt durch Anlegen von gut saugendem Fließpapier an die Ablaufstelle die Flüssigkeit nach Möglichkeit; alsdann bringt man sogleich 4—5 Tropfen 90—95-proz. Alkohol auf die feuchte Fläche, läßt ihn 10—15 Sekunden einwirken, gießt und saugt ihn ab; man wiederholt das Auftropfen und Absaugen des Alkohols noch zweimal und läßt die Schicht alsdann lufttrocken werden. Hierauf wird das Präparat durch die Flamme fixiert und in der üblichen Weise mit Antimonbeize und Aethylaminsilber behandelt. Es trägt zur Klarheit des Präparates bei, wenn man nach dem Abgießen des Aethylaminsilbers das Präparat zuerst mit etwa 1-proz. Ammoniak betropft, dieses 3 bis 4 Sekunden lang einwirken läßt und nun erst mit Wasser spült; etwaige Niederschläge von Silberoxyd werden hierdurch mit Leichtigkeit gelöst, während das metallische Silber, welches in den Bakterien abgeschieden ist, völlig unangegriffen bleibt. Hat man eine stark trübe, beim Aufkochen sich nicht völlig klärende Antimonbeize benutzt, so werden beim Mikroskopieren des in Wasser liegenden Präparates mit einem starken Trockensystem (3 oder 4 mm-Apochromat) die Geißeln meist genügend kräftig erscheinen; sind sie zu blaß, so kann man sie leicht auf folgende Weise kräftigen:

Man braucht für diese Verstärkung:

a) Pyrogallollösung. α) Jahrelang haltbare Vorratslösung, falls gut verkorkt, stellt man durch Auflösen von 1 g Pyrogallol und 3 g Citronen-

säure in 20 ccm 90—95-proz. Alkohol her, β) verdünnte, nur 6—8 Wochen haltbare stellt man aus ihr zum Gebrauch her, indem man 1 ccm zu 50 ccm Wasser setzt; diese letztere Lösung ist auch dann noch brauchbar, wenn sie sich im Laufe der Zeit braun gefärbt hat.

b) Silberlösung, unbegrenzt haltbar: 0,25 g salpetersaures Silber und 0,3 g Zitronensäure löst man in 50 ccm Wasser.

Soll das Präparat verstärkt werden, so tropft man auf das Deckglas 4 Tropfen der verdünnten Pyrogallollösung, hierauf 2 Tropfen der Silberlösung, schwenkt zur Mischung um und läßt die Flüssigkeit 30—60 Sekunden einwirken; das reduzierte Silber setzt sich nur an vorhandene Silberteilchen, nicht, wie ich mich zu wiederholten Malen bei Versuchen mit reinen, fettfreien Deckgläsern ohne Bakterien-Ausstriche überzeugt habe, an die reinen Glasflächen an; die Geißeln erhalten durch diese Verstärkung jene Schwärze, welche erforderlich ist, um sie dunkel auf hellem Untergrunde photographieren zu können.

3) Nach dem Trocknen erfolgt die Einbettung in Kanadabalsam.

Falls bei den ersten Versuchen die ganze Fläche des Präparates nach der Silberung braun oder schwarz wird, hat man viel zu viel Bakterienmaterial in das Wasser gebracht; ein gutes Präparat zeigt nur an einigen Stellen dunkle Punkte oder Zonen, in deren Nähe sich alsdann ein dichtes und klares Bakteriengewimmel befindet, während weiterhin nach den hellen Stellen des Präparates zu sich die Bakterien immer in kleinen Gruppen oder ganz vereinzelt finden auf fast klarem Untergrunde. Nur muß man sich die Mühe nicht verdrießen lassen, solche Stellen aufzusuchen. Kleine oder größere Haufen von Kokken zeigen fast nur kurze Geißeln, welche in geringer Anzahl herausragen. Bei Benutzung von 24 Stunden alten Kulturen gelang es bei den ersten 3 Generationen, trotz lebhaften Schwärmens der Bakterien, nicht, die Geißeln sichtbar zu machen; sie sind bei diesen in lebhaftester Teilung befindlichen Kokken wahrscheinlich so zart und vergänglich, daß sie auch nach der beschriebenen neuen Methode nicht sichtbar wurden; bei Benutzung einer 2-tägigen dagegen ließen sie sich fast in jedem Gesichtsfeld eines Präparates nachweisen. Auch scheint der Organismus sich an den Nährboden gewöhnt zu haben, da 3 Wochen später bei der 12. Generation der Nachweis auch in 24-stündigen Kulturen gelang.

Wie man sich durch Nachmessen bei den Photogrammen überzeugen kann (1 mm entspricht $1\ \mu$ natürlicher Größe), kann die Länge der Geißel bis $11\ \mu$ betragen; in lebendem und zur Fortbewegung benutztem Zustande abgetötet, zeigt sie einige Wellen, die kleineren meist nur 1 oder 2 halbkreisförmige Biegungen; bei sehr starker Färbung beträgt die Breite $0,25\ \mu$, gewöhnlich $0,2\ \mu$; wird also wohl in ungefärbtem Zustande unter $0,1\ \mu$ Durchmesser besitzen. Der Coccus besitzt 1 Geißel; selten und nur bei gestreckten, also in Teilung begriffenen Exemplaren findet man 2 Geißeln; deutliche Zöpfe oder Ansätze zu solchen habe ich niemals beobachtet.

Das sonstige Verhalten des *Micrococcus sensibilis* gegen Farbstoffe und auf unseren Nährböden ist folgendes:

Anilinfarben werden leicht aufgenommen, doch färbt sich beim nassen Fuchsinpräparat hauptsächlich der äußere Teil des Coccus und die Teilungsstellen; auch im Trockenpräparat zeigt er ein ähnliches Verhalten und erfordert ein Erhitzen mit dem Farbstoff, wenn er dunkel und gleichmäßig gefärbt erscheinen soll; infolge der ungleichmäßigen Aufnahme des Farbstoffes erscheinen daher die Kokken, wenn sie nicht überfärbt sind,

im Photogramm als Kreise oder sind nur zur Hälfte gefärbt; bei Doppelkokken ist mitunter der eine dunkel, der andere hell gefärbt. Da die Reproduktion der Fig. 18 die Feinheiten, welche auf der Celloidinkopie gut erkennbar sind, im Rasterdruck nur ungenügend wiedergeben kann, habe ich einige Stellen der Aufnahme 5mal vergrößert (vgl. die Fig. 19—25). Die Durchmesser der Kokken schwanken, auch wenn man von verkümmerten Exemplaren absieht, recht stark, von $0,7\text{--}1,3\ \mu$; auch bei den als Doppelkokken vorhandenen ist der eine oft bedeutend kleiner als der andere; ich bin ungewiß, ob diese Schwankungen der 24 Stunden alten Kultur durch den Nährboden bedingt oder eine Folge der Eigentümlichkeiten dieser Art sind; bei einem gewöhnlichen Trockenpräparat, in Wasser eingelegt, schwankte der Durchmesser innerhalb derselben Grenzen; in Kanadabalsam liegend, zwischen $0,6\text{--}1,0\ \mu$; schwach gesilbert, von $0,9\text{--}1,1$ in Wasser liegend; stark gebeizt und gesilbert, in Kanadabalsam eingebettet, meist zwischen $1,1\text{--}1,2\ \mu$.

Die Färbung nach Gram ist positiv, auch nach verlängerter Alkoholbehandlung.

Kolonieen auf der Oberfläche von 10-proz. selbst bereiteter Spirillengelatine werden für das Auge erst am 3. Tage, und zwar bei schrägem Lichteinfall, sichtbar; sie bleiben auch späterhin klein; 5-tägige erreichen einen Durchmesser von $0,05\text{--}0,06\text{ mm}$; sie sind sehr fein gekörnt, glattrandig und farblos. Die Tiefenkolonieen sind etwas dunkler, mit zarter, schwarzer Linie umrandet und von leicht gelblichbrauner Farbe. Enthält der Nährboden nur 5 Proz. Gelatine, so werden die Kolonieen größer, bis $0,09\text{ mm}$, bei völlig freier, von anderen weit entfernter Lage sogar bis $0,15\text{ mm}$ am 3. Tage; sie bleiben auch fernerhin klein und erlangen höchstens einen Durchmesser von $0,32\text{--}0,37\text{ mm}$ am 6. Tage; Verflüssigung der Gelatine wurde in den ersten 10 Tagen nicht beobachtet.

Bei höherem Gehalt des Nährbodens an Nährstoffen und an Gelatine, wie solcher im Sommer und bei Bereitung von mehreren Litern in den Instituten notwendig ist und 16—18 Proz. beträgt, sind die Kolonieen trotz dieses hohen Gehaltes etwas größer; sie erreichen einen Durchmesser bis zu $0,6\text{ mm}$. Als zur Prüfung auf Reinheit die erste Abimpfung vom 22. Febr. 1915 5 Monate später auf solcher Instituts-gelatine ausgestrichen wurde, zeigten sich in vielen Kolonieen am 4. Tage 2—3 schwarze Punkte, welche bis zum folgenden Tage an Größe und Menge zunahmen (vgl. die Fig. 28); Verflüssigung trat am 6. Tage ein, und zwar bei dichter Lage im Strich völlig; einzeln liegende Kolonieen waren gerade eingesunken; noch stärker verflüssigt war die andere Hälfte der Platte, auf welcher eine häufig auf Spirillenagar übertragen Kultur vom 8. Juli zum Vergleich ausgesät war; auch diese zeigte am 4. Tage Punkte.

Im Strich auf Spirillen- und gewöhnlicher Gelatine bildet er eine auf diesen beschränkte weiße Auflagerung, welche nach 9 Tagen abgeflossen war, ohne die Gelatine sonderlich verflüssigt zu haben; bei 5 Proz. Gelatinegehalt verflüssigt er diese oberflächlich.

Im Stich in 10- und 5-proz. Spirillengelatine entwickelt er sich bis unten hin, so daß man am 3. Tage deutlich erkennen kann, daß die eingeführte Bakterienmasse ein wenig zugenommen hat; nach weiteren 4—5 Tagen setzt das Wachstum aus, nur an der Oberfläche schreitet es unter allmählicher geringer Verflüssigung der Gelatine etwas weiter fort; diese nimmt im Verlauf von 5—6 Wochen nach unten zu und geht bis zur Mitte der Gelatine.

Auf Spirillenagar ist das Wachstum der Kolonien der feuchten Oberfläche wegen ein viel üppigeres; hier erreichen sie einen Durchmesser von 3—4 mm, ehe sie das Wachstum nach 5—6 Tagen einstellen; sie bieten nichts Charakteristisches und sind milchweiß, mit einem leichten Stich ins Schmutziggelbe; während die Kokken am 1. bis 3. Tage, von diesem Nährboden entnommen, lebhaft beweglich sind, zeigen sie auf gewöhnlichem Agar bei gleicher Wuchsform der Kolonien geringe oder fehlende Beweglichkeit.

In 0,2 Proz. Kaliumphosphat und 0,5 Proz. Asparagin enthaltender Nährlösung sowie auf Agar aus solcher ist er in 24 Stunden deutlich angegangen und entwickelt sich weiterhin mäßig; ein Zusatz von 1 Proz. Traubenzucker zu diesem Nährboden bewirkt größere Ueppigkeit des Wachstums; der Belag ist, wie so häufig auf zuckerhaltigen Nährböden, schleimig, die Kokken schlecht, meist unbeweglich. Auf Traubenzucker enthaltendem Spirillenagar sind sie am 2. Tage recht gut beweglich, trotz des durch diesen Zusatz bedingten üppigeren Wachstums. In 0,2 Proz. Kaliumphosphat enthaltender Nährlösung ohne Asparagin geht er nicht deutlich an.

Auf Kartoffel wächst er gut und bildet in einigen Tagen eine schmutzig-weiße Auflagerung, welche auf den Impfstrich beschränkt bleibt und unbewegliche Kokken, sowie gar nicht als Kokken erkennbare Involutionsformen enthält.

Auf Runkelrübe geht er wegen der sauren Reaktion des Nährbodens erst in 48 Stunden an; später bildet er eine über die Oberfläche sich allmählich ausbreitende, schleimige Masse, welche zuletzt von dem Rübenstück abfließt und mit der Platinnadel sich zu Fäden ausziehen läßt.

Lackmus-Dextrose-Agar wird von ihm nach 3—4 Tagen gerötet.

Lackmus-Maltose-, Mannit-, Rhamnose- und Saccharose-Agar werden gebläut.

Sterile Milch wird von ihm in etwa 14 Tagen in eine fast klare, gelbliche Flüssigkeit verwandelt; an der Oberfläche befindet sich das Fett, am Boden eine geringe Menge eines gelblichen Satzes; die Flüssigkeit reagiert alkalisch.

Auf Rinder- und Loeffler-Serum gedeiht er gut und bildet einen dicken, weißen Rasen.

Im Strich auf Spirillenagar 48 Stunden lang bei 37° gehalten und ebenso stark beimpft, wie die zum Vergleich bei 28° und 17° aufbewahrten, zeigte er keine Spur einer Entwicklung; hierauf bei Zimmertemperatur gehalten, war er nach 40 Stunden nicht sicher angegangen; erst 24 Stunden später war das Wachstum deutlich; die Temperatur von 37° scheint ihn etwas geschädigt zu haben, da die bei 17° aufbewahrte Uebertragung in 24 Stunden sich gut entwickelt hatte; bei 28° wächst er noch schneller, wird jedoch in der Beweglichkeit geschädigt. Daß es sich nicht um bloße Geißelstarre handelte, zeigten 2 von solcher Kultur nach der neuen Methode angefertigte Geißelpräparate: nur nach längerem Suchen wurden einige abgerissene Geißeln gefunden, sehr selten eine am Coccus.

In Kulturen auf Spirillenagar ist er gut haltbar; von der ersten, am 22. Febr. 1915 angelegten, stark eingetrockneten Kultur am 20. Juli 1915 übertragen, entwickelte er sich so gut weiter wie von einer frischen.

III. *Pseudomonas xanthæ*.

Eine gelbe, spontane Kolonie von gewöhnlichem Agar auf Spirillenagar ausgestrichen, zeigte äußerst bewegliche, kleine Bakterien; im

Geißelpräparat wurden Polgeißeln von so bedeutender Länge beobachtet, daß ich zuerst glaubte, die *Pseudomonas macroselmis* wiedergefunden zu haben; von dieser gibt Migula im ersten Teil seines Werkes in Fig. 5 auf Tafel I ein Photogramm mit Geißeln von 15 und 19 μ Länge; die späteren Untersuchungen zeigten, daß das vorliegende Bakterium leicht von dieser Art zu unterscheiden ist. Es macht gelben, unlöslichen, nicht wie die *Pseudomonas macroselmis* grün fluoreszierenden, im Agar löslichen Farbstoff; wächst auf Kartoffel gelb und grau oder bräunlich; verflüssigt die Gelatine und ist durchweg bedeutend kleiner als jene.

Die *Pseudomonas xanthe* besitzt die längsten Geißeln, die ich bei einem Bakterium bisher beobachtet habe. Die Fig. 29—33 zeigen sicher einfache Geißeln von 15—20 μ Länge. Daß man bei Beurteilung der Länge von Geißeln vorsichtig sein muß, erläutern die Fig. 43, 40 und 39. Bei Fig. 43 läßt sich auch bei Betrachtung der Celloidinkopie mit der Lupe bei 6-facher und des Negativs bei 30-facher Vergrößerung nicht feststellen, ob die vom mittleren Bakterium nach rechts abgehende Geißel sich nach oben umbiegt und zurückschlägt, mithin eine Länge von etwa 13 μ besitzt, oder ob sie in der ursprünglichen Richtung sich fortsetzt und eine Länge von 23 μ erreicht; in letzterem Falle müßte sich auf ihrer oberen Seite ein kurzes Stück von 3 μ einer freien Geißel gerade angelagert haben, ohne mit ihr zu verschmelzen; in ersterem auf ihrer unteren Seite eine solche von fast gleicher Länge, wie sie eine solche besitzt.

Bei Fig. 40 bin ich der Ansicht, daß es sich um eine einfache Geißel von 26 μ Länge handelt, welche an zwei Stellen durch Anlagerung von Schleimspuren etwas verdickt ist oder sich an diesen Stellen etwas kräftiger gefärbt hat; wer dieser Meinung nicht zustimmt, sondern glaubt, daß es sich um Anklebung von 2 Bruchstücken, 3 und 9 μ lang, handelt, muß ihre Länge auf 14 μ reduzieren.

Bei Fig. 39 war es leichter im Photogramm festzustellen, daß die Länge nicht 33 μ beträgt, als im Präparat vor der Aufnahme; bei der Beobachtung dieser Stelle wurde die Aufmerksamkeit von den 2 punktförmigen Verdickungen besonders in Anspruch genommen und die Anlagerungsstelle trotz wechselnder Einstellung als Biegung aufgefaßt; die Täuschung wurde begünstigt durch die fast geradlinige Fortsetzung der angelagerten Geißel; eine 3-malige Nachvergrößerung des Negativs, Fig. 38, zeigt sehr deutlich, daß es sich um eine angelagerte Geißel von 15—16 μ handelt; die zum Bakterium gehörige ist daher nur 16 bis 17 μ lang.

Bei Migulas Photogrammen sind die Geißeln von *Pseudomonas macroselmis* 15—19 μ lang; bei der Beschreibung dieser Art Teil II. p. 914 gibt er an, solche von 35 μ gesehen zu haben; ob es sich wirklich um einfache Geißeln gehandelt hat, ist mir sehr fraglich; ich vermute ähnliche Anlagerungen, wie bei den obigen Figuren meiner *Pseudomonas*.

In Teilung befindliche Stäbchen täuschen einen *Diplococcus* vor und besitzen häufig 2 Geißeln, von denen die eine oft kürzer ist als die andere (vgl. die Fig. 32 und 37), selten 3 (Fig. 35). Beizt man stark und silbert schwach, so färbt sich nur das Ektoplasma (vgl. Fig. 44 und 45).

Da die lateinischen Ausdrücke für gelb bereits an verschiedene Bakterien vergeben sind, wähle ich für diesen mit Polgeißeln versehenen Mikroorganismus die griechische Bezeichnung für gelb, *xanthos*, welche

sich auch besser für das griechische Hauptwort eignet; ich nenne das Bakterium also *Pseudomonas xanthe*.

Anilinfarben werden leicht aufgenommen; der gefärbte Teil einer 2-tägigen Kultur auf Spirillenagar (Fig. 46) zeigt im nassen Fuchsinpräparat eine Breite von 0,5–0,6 μ bei 0,8–1,4 μ Länge. In älteren Kulturen, z. B. von 7 Tagen bei obiger Kultur, ist die Breite etwas geringer, 0,4 μ ; die Länge schwankt zwischen 0,4 und 1,0 μ . Im gebeizten Zustande, in Wasser liegend, beträgt die Breite 0,8–0,9 μ bei 0,8–1,6 μ Länge; durch das Einlegen in Kanadabalsam werden diese Maße nicht verändert.

Die Färbung nach Gram fällt negativ aus.

Bei Aussaat in Gelatine sind die Kolonien auf der Oberfläche am 3. Tage etwa 0,15–0,2 mm groß, wenig gefärbt, sehr fein gekörnt und glattrandig; diejenigen in der Tiefe deutlich gelbbraun, mit Randlinie; größer geworden, verflüssigen sie am 4. und 5. Tage die Gelatine; die deutlich gelb gefärbte Bakterienmasse verteilt sich.

Im Strich auf Gelatine entsteht eine weißlichgelbe Auflagerung, welche in der Verflüssigungsrinne herunterfließt.

Auf Spirillenagar ist der Rasen hellgelb, die im Quetschwasser befindliche Bakterienmasse dunkelgelb.

Auf gewöhnlichem Agar ist der Belag dicker als auf Spirillenagar, glänzend und dunkelgelb.

Lackmus-Dextrose-, Maltose- und Saccharose-Agar werden gerötet, in 7 Tagen bis zum Boden.

Neutralrotagar wird nicht entfärbt.

Auf Drigalski-Agar wurde die Reaktion nicht erkennbar geändert. Gebläut wurde Mannit- und Rhamnose-Agar.

Auf Kartoffel entsteht eine dunkelgelbe Auflagerung.

Milch wird in 4 Wochen etwas rosagelb gefärbt, ohne sonst verändert zu werden.

Auf Loeffler-Serum bildet sich eine sehr wenig gefärbte, mäßig dicke Auflagerung.

Auf Agar mit 0,2 Kaliumphosphat und Asparagin wurde ein Wachsen nicht mit Sicherheit beobachtet.

Sporenbildung wurde nicht beobachtet; auch nicht auf stark verdünntem Spirillenagar innerhalb 3 Monaten.

Stark eingetrocknete Kulturen lassen sich noch gut übertragen.

Bei 37° findet ein Wachstum statt, doch fehlt die Beweglichkeit.

IV. *Bacterium punctans sulfureum*.

Eine einzeln liegende Kolonie auf gewöhnlichem Agar wurde auf Spirillenagar übertragen und zeigte alsdann lebhaft bewegliche, dem Anschein nach aus Kokken und Diplokokken bestehende Bakterien. Ein Ausstrich auf Spirillenagarplatte ergab lauter gleiche Kolonien, von denen eine zu erneutem Ausstrich benutzt wurde; als die mikroskopische Untersuchung auch hier lebhaft schwärmende, meist einzelne „Kokken“ ergeben hatte, wurden 2 ganz einzeln liegende Kolonien als Reinkultur I und II abgestochen; sie ergaben Geißelpräparate von gleichem Aussehen; die Länge der Geißeln erreicht 20 μ (vgl. die Fig. 48–53). Lebendfärbung mit alkalischem Methylenblau, bei welcher die Bakterien sich noch eine Zeitlang in gefärbtem Zustande weiter bewegten, sowie Trockenfärbung mit Fuchsin ergaben, daß es sich um ein Kurzstäbchen handelte, so sehr auch die freiliegenden, einzelnen, völlig runden Exem-

plare an Kokken erinnern. Lebend mit Fuchsin gefärbt, schwankt die Breite von $0,55\text{--}0,7\ \mu$ bei $0,7\text{--}1,05\ \mu$ Länge; in den Geißelpräparaten sind die Schwankungen geringer; die Mehrzahl zeigt eine Breite von $1,1\ \mu$; nach sehr starker Beizung mitunter $1,2\ \mu$ bei $1,4\text{--}1,5\ \mu$ Länge. Erscheint das Stäbchen deutlich gestreckt oder deutlich als in Teilung begriffen, so steigt die Länge auf $1,7, 1,9$, sogar auf $2,3\ \mu$. Die Länge der Geißeln erreicht häufig $10\text{--}15\ \mu$, ausnahmsweise $20\ \mu$; statt einer langen Geißel trägt eine Anzahl von Exemplaren mehrere von geringerer, $7\text{--}8\ \mu$ nicht übersteigender Länge; ausnahmsweise besitzt ein junger „Coccus“ (wie in Fig. 53) 2 Geißeln von 13 und $14,5\ \mu$ Länge.

Um die sonstigen Eigenschaften kennen zu lernen und festzustellen, ob der Organismus schon bekannt war, wurden zunächst von Kultur I Oberflächenkolonien angelegt, indem die eine Hälfte derselben Verdünnung auf gewöhnliche, die andere auf Spirillengelatine auf- und abgegossen wurde. Da die Bakterien sich leicht in Flüssigkeiten verteilen und die Verdünnung tüchtig, wenn auch nicht mit dem elektrischen Apparat geschüttelt war, so konnte man annehmen, daß die Mehrzahl der Kolonien aus einem einzelnen oder Doppelkeim entstehen würde. 48 Stunden nach Aussaat waren die Kolonien für das bloße Auge als kleinste Pünktchen gerade erkennbar; unter dem Mikroskop zeigten sie zarte Körnung, wie solche bei sehr vielen Bakterienkolonien zu beobachten ist. Während der ersten 5 Tage war ein bemerkenswerter Unterschied zwischen den beiden Platten nicht erkennbar; entsprechend der Zunahme an Masse erschienen die Kolonien am 5. Tage in der Durchsicht bräunlichgelb und stärker gekörnt; am 6. Tage wurden auf der Platte mit der gewöhnlichen Institutsgelatine beim Mikroskopieren in einigen Kolonien kohlschwarze Punkte von $8\text{--}16\ \mu$ Durchmesser beobachtet, welche einen Tag später an Größe zugenommen hatten und an Zahl, es wurden bis 70 Punkte in einer Kolonie gezählt; auch zeigte nun die Mehrzahl der Kolonien diese Einlagerungen; auch waren viele Kolonien etwas eingesunken und fingen an, bei dichter Lage die Gelatine zu verflüssigen; einige Tage später schwammen sie in der nun völlig flüssigen Gelatine, ohne daß die Bakterienmasse sich in dieser verteilte. Auf der Spirillengelatine wurden punktierte Kolonien auch am 10. Tage, als der Nährboden schon stark verflüssigt war, nicht beobachtet.

Im Photogramm erinnerten diese punktierten Kolonien lebhaft an die von Reiner Müller veröffentlichten Bilder von Kolonien mutierender Typhusbakterien sowie an diejenigen, welche Massini vom *Bacterium coli mutabile* veröffentlicht hat; ich neigte daher der Ansicht zu, daß es sich auch im vorliegenden Falle um Mutationen handelte, und legte, da die vorliegenden kleinen, mutierten Stellen sich schlecht abimpfen ließen, Tupfkolonien an, da in solchen die Bildung sekundärer Kolonien oder Knöpfchen erleichtert wird; ich hoffte, größere, zur Abimpfung des *Bacterium mutatum* geeignetere Knöpfchen zu erhalten; das Gegenteil trat ein, die Punktbildung blieb aus, sowohl auf Gelatine wie auf Agar, trotz mehrfacher Wiederholung des Versuches; es war mir schon bei der ersten Platte aufgefallen, daß bei weit entfernt von den anderen liegenden Kolonien Punkte sich nicht gebildet hatten, während bei dichter Lagerung auch kleine Kolonien sie zeigten.

Um zu erfahren, ob die Einlagerungen sich vergrößern würden, wurde einmal eine ganze kräftig punktierte Kolonie auf Spirillenagar

übertragen; nach 48 Stunden war von den Punkten nichts mehr zu erkennen, und es wurde eine der verwendeten Ausgangskultur gleiche mit lebhaft beweglichen kokkenartigen Kurzstäbchen erhalten. Dasselbe Resultat wurde nach Uebertragung von 3 punktierten Kolonien auf Spirillenagar erhalten; nur ließ sich das allmähliche Verschwinden der undurchsichtigen Punkte, bis sie nach etwa 5 Tagen nicht mehr als dunklere Masse mit der Lupe aufgefunden werden konnten, besser verfolgen.

Da die Einlagerungen bei durchfallendem Licht kohlschwarz, bei auffallendem schneeweiß erschienen, mußten die Bakterien an diesen Stellen viel dichter gelagert sein, als an den das Licht noch durchlassenden übrigen Teilen der Kolonie. Um sie mit starken Systemen beobachten zu können, wurde etwa ein Viertel einer Kolonie, welche sich gut als Ganzes aus der halbflüssigen Gelatine herausheben und auf einen Objektträger bringen ließ, nach Auflegung eines Deckglases kräftig gequetscht; die Oelimmersion zeigte dann, daß die Punkte dem Anschein nach aus verkitteten Bakterien bestehen, deren Form auch nach Hinzufügung von alkalischem Methylenblau nicht zu erkennen war. Als eine Kolonie in Wasser auf dem Objektträger gebracht war, gelang es durch behutsames Schwenken und Abgießen sowie Wiederholung dieses Schlämmens, einen Teil der Einlagerungen in Gestalt weißer Körnchen fast rein zurückzubehalten; jedoch auch jetzt gab die mikroskopische Untersuchung und Färbung keinen Aufschluß über die Gestalt der in ihnen enthaltenen Bakterien. Ohne Resultat verliefen auch die Versuche, aus solchen, durch Schlämmen erhaltenen Einlagerungen das etwaige *Bacterium mutatum* in Reinkultur zu erhalten; zu diesen Versuchen eignete sich die Platte N vorzüglich, da die Kolonien auf ihr fast schwarz von zusammengewachsenen Punkten waren; es ließen sich durch 6-maliges Schlämmen in sterilen Gefäßen und Flüssigkeiten leicht die in 3 Kolonien enthaltenen Einlagerungen in fast reinem Zustande erlangen; nach dem Schütteln während einer halben Stunde im elektrischen Apparat waren sie gut zertrümmert; eine ausgeschleuderte Probe zeigte außer den bekannten Kurzstäbchen auch etwas längere Bakterien; ein Ausstrich der Flüssigkeit auf Spirillenagar ergab nur bewegliche Kokken und Diplokokken; ein anderer auf neutrale Gelatine die bekannten, runden Kolonien, keine abweichender Form, in welchen sich jedoch wider Erwarten bis zur Verflüssigung der Gelatine keine Punkte bildeten; ebenso wenig wurden sie in Ausstrichen oder einzelnen Kolonien auf Spirillen- oder gewöhnlichem Agar gebildet.

Daß das Bakterium zu Variationen neigt und daß man selbst bei Benutzung derselben Gelatine nicht mit Sicherheit auf Bildung der Punkte rechnen kann, zeigten die Platten K und L, beide von derselben Institutsgelatine gegossen (erst viel später, nach Kenntnis von der Natur der Einlagerungen, kam mir der Gedanke, daß die zur Platte benutzten beiden Röhrchen vielleicht von 2 verschiedenen Bereitungen herrührten und nicht gleiche Alkalität besessen hatten), und Platte M, Spirillengelatine enthaltend; während auf der Platte K die Punktbildung am 10. Tage nach Aussaat begann und die Kolonien am 13. bei 2,5—3 mm Durchmesser Hunderte von kleinen Punkten zeigten, war auf Platte L am 10. Tage von ihnen nichts zu sehen; auch war das Gefüge der Kolonien ein anderes; vom 6. Tage ab zeigten sie auf dieser Platte konzentrische, dunkle Ringe und ein fast noch dunklerer Rand. Ferner wurde eine kleine Anzahl gelappter und mit kleinen Buckeln versehener

Kolonieen beobachtet; während sich in den ersteren innerhalb der neu-gebildeten Randpartieen am 10. Tage eine geringe Anzahl von Punkten bildete, blieben die gelappten frei von ihnen; als die Platte, welche in der Nähe des geheizten Ofens gestanden hatte, bei der Besichtigung am 12. Tage schräg gehalten wurde, floß von einer Anzahl großer Kolonieen die halbflüssige Gelatine nach unten; hier bildeten sich neue Kolonieen, von denen 3—4 Tage später jede trotz ihrer Kleinheit 4—20 Punkte zeigte.

Die Resultate der bisherigen Untersuchungen waren also, kurz zusammengefaßt, folgende: Die Bildung der Einlagerungen erfolgt niemals auf Agar; sie ist auf Gelatine großen Schwankungen unterworfen; sie bleibt aus bei Tupfkolonieen.

Schließlich brachte der Zufall die Aufklärung. Es sollte eine Kolonie mit sehr kleinen, eben gebildeten Punkten photographiert werden; da die Gelatine etwas erweicht erschien, wurde die Platte, um sie senkrecht aufstellen zu können, mit Formalin behandelt, indem ein Stück Fließpapier, mit 40-proz. Formalin benetzt, in den Deckel der Schale eingelegt wurde. Als 1½ Stunde später die Aufnahme geschehen sollte, waren die schwarzen Punkte verschwunden; an ihrer Stelle befanden sich helle Lücken (vgl. Fig. 58); daraus konnte der wichtige Schluß gezogen werden, daß es sich nicht um eingelagerte, dichtere Bakterienmassen handelte, sondern um Ausscheidungen eines durch den Stoffwechsel bedingten Produktes.

Der Versuch wurde sogleich mit einer auf den Objektträger überführten, sehr stark punktierten Kolonie der Platte N wiederholt; sie ließ sich, ohne daß die Form der Einlagerungen gestört wurde, bequem mit einem kleinen Spatel zusammen mit der unter ihr befindlichen Gelatine übertragen; 2 Stunden mit Formalin behandelt, zeigten die Punkte keine Veränderung; erst am folgenden Tage erschienen die kleinen aufgeheilt (vgl. Fig. 64), die großen unverändert; der Ausfall dieses Versuches, bei welchem Formaldehyddämpfe im Ueberschuß vorhanden waren, legte die Vermutung nahe, daß nicht diese, sondern die dem käuflichen Formalin beigemengten Verunreinigungen, wie z. B. Ameisensäure, das Verschwinden der Punkte bewirkt hatten; es lag daher nahe, Säuredämpfe anderer Art zu benutzen; durch Essigsäuredämpfe hellten sich denn auch schon nach 15—20 Minuten die kleineren Einlagerungen stark auf (vgl. Fig. 65); Salzsäuredämpfe wirkten in 20—30 Sekunden unter Entwicklung von Gasblasen, welche zum Teil in der Kolonie zurückgehalten wurden; Ammoniakdämpfe dagegen brachten innerhalb 48 Stunden keine Veränderung hervor; ein Resultat, welches vorauszusehen war, da der Luftraum in den Kulturschalen alkalisch reagiert und eingeführtes Lackmuspapier sich innerhalb 10—20 Sekunden blau färbt.

Es wurden nun von Platte N 6 Kolonieen in ein Spitzröhrchen mit 5—6 ccm destilliertem Wasser übertragen und mäßig geschwenkt; dabei blieben die Einlagerungen zum größten Teil in Zusammenhang und setzten sich in 20—30 Sekunden in der Spitze ab; nach dem Abgießen der über ihnen stehenden trüben Flüssigkeit und erneuter Zugabe von Wasser wurde letzteres kaum mehr getrübt; dieses Schlämmen wurde noch 2mal wiederholt, die letzten Reste des Wassers dann mit etwas Fließpapier abgesaugt und zu dem Rückstand 1 Oese starker Salzsäure gebracht; unter lebhaftem Aufbrausen ging er in Lösung; ein wenig der erhaltenen Flüssigkeit ließ, spektralanalytisch geprüft, die grüne und orange Kalklinie erkennen; je 1 Oese der Lösung auf einem Objektträger, mit Ammoniumkarbonat und -oxalat versetzt, gaben weiße Nieder-

schläge; 1 Oese konzentrierter Schwefelsäure zum Rest der Flüssigkeit gesetzt, ergab einen dicken, weißen Brei, der unter dem Mikroskop die charakteristischen Nadeln des schwefelsauren Kalkes zeigte. Noch schöner bildeten sie sich nach Hinzufügung von 2 Tropfen Wasser und langsamem Eintrocknen auf einem Objektträger; hier wurden auch deutliche Zwillingskristalle mit ein- und ausspringenden Winkeln beobachtet.

Die Einlagerungen bestehen also aus kohlensaurem Kalk, welcher sich aus den im Nährboden gelösten Kalkverbindungen abscheidet, wenn durch den Lebensprozeß der Bakterien sich kohlensaures Ammon bildet, Ob es sich um reinen kohlensauren Kalk handelt, welcher nur mechanisch Bakterien einschließt, oder ob er sich in Verbindung mit organischen Stoffwechselprodukten befindet, habe ich nicht untersucht. Bei Benutzung von neutral reagierenden Nährböden erfolgt daher die Bildung der Punkte später resp. gar nicht, als wenn der Nährboden die übliche Alkalität besitzt; im ersteren Falle wird das durch den Stoffwechsel gebildete Alkali zuerst zur Neutralisation der primären oder sekundären Phosphate benutzt. Um die Richtigkeit dieser Annahme zu prüfen, wurden 2 Kulturen benutzt, von denen die eine von einer kleinen, punktierten, die andere von einer großen Kolonie ohne Punkte herstammte; sie wurden auf gewöhnliche Institutsgelatine und ebensolche nach Zusatz von 0,5 ccm 10-proz. Sodalösung ausgestrichen; während auf letzterer 3 Tage nach Aussaat, und zwar über Nacht, in allen Kolonien von 0,8–1,0 mm Durchmesser sich viele und große Punkte gebildet hatten, erschienen diese auf der Platte mit der schwachen Alkalität erst am 6. Tage bei einer geringen Anzahl von Kolonien. Daß es in der Gelatine nicht an Kalkverbindungen gefehlt hatte, zeigte ein weiterer Versuch, bei welchem der schwach alkalischen Gelatine 0,1 g neutrales, kristallisiertes Chlorcalcium auf 10 ccm zugesetzt wurde; trotz des großen Gehaltes an Kalksalzen bildeten sich auch in diesem Falle erst am 7. Tage Punkte innerhalb der Kolonien; außerhalb derselben an freien Stellen des Nährbodens wurden schon am 6. Tage hin und wieder knollige Abscheidungen von kohlensaurem Kalk beobachtet.

Die Menge des in den Kolonien abgeschiedenen kohlensauren Kalkes ist bei manchen Platten eine bedeutende; sie ist größer, als man nach Alkalisierung des Nährbodens bei Kochhitze vermuten sollte; vielleicht befinden sich die Kalksalze in organischer Verbindung mit Gelatine; man kann sich leicht davon überzeugen, daß die zur Bereitung der Nährböden verwendete Gelatine die Kalkverbindungen in 2 Formen enthält, nämlich erstens als leicht lösliches und durch Wasser auswaschbares Chlorcalcium und zweitens in irgendeiner festeren Verbindung mit der Gelatine; weicht man nämlich 1 Tafel Gelatine in 20 ccm destilliertem Wasser 10–15 Minuten lang ein, gießt den nicht aufgesaugten Teil ab, so läßt sich in diesem leicht Chlorcalcium nachweisen; wäscht man die Gelatine mit 6–7mal erneuertem Wasser 2–3 Stunden lang aus, bis die Reaktionen auf Kalk versagen, so läßt sich in dieser ausgewaschenen Gelatine leicht von neuem die Gegenwart von Kalk erkennen, wenn man die Tafel schmelzt, 1 ccm Normalnatron zusetzt, 10–12 Minuten kocht, um die Erstarrungsfähigkeit zu vernichten, hierauf mit 2 ccm $\frac{1}{2}$ -Normalsalzsäure neutralisiert und nun die Flüssigkeit nach dem Filtrieren auf Kalk prüft; oxalsaures Ammon gibt sofort einen kräftigen, kohlensaures Ammon einen geringeren Niederschlag; diese Niederschläge lassen sich abfiltrieren und in Calciumsulfat mit seinen charakteristischen Kristallen überführen. Agar, in ähnlicher Weise geprüft, zeigt, wenn man

5 g mit 20 ccm Wasser übergießt und 2–3 ccm Flüssigkeit abpreßt, eine geringe Reaktion auf Kalk; erhitzt man den gequollenen Agar mit 20 ccm $\frac{1}{2}$ -normaler Salzsäure 6–8 Minuten zum Kochen, so löst er sich leicht, ohne beim Erkalten zu erstarren; nach dem Neutralisieren mit 10 ccm Normalnatron und Filtrieren erhält man mit den Reagentien auf Kalk nur Spuren von Niederschlägen; in einem auf gewöhnliche Weise bereiteten Agarnährboden befinden sich daher nur sehr geringe Mengen von Kalkverbindungen. Bei einer weiteren Versuchsreihe wurde der Gehalt der Gelatine an Alkali allmählich gesteigert (neutral, 0,15, 0,3, 0,5 ccm 10-proz. Sodalösung auf 10 ccm neutraler Gelatine); als Resultat ergab sich, daß ein Zusatz von 0,3 ccm am günstigsten ist, um schöne Punkte bereits vom 3. Tage ab zu erhalten und die baldige Abscheidung von Kalkknollen im Nährboden zu vermeiden; ferner daß bei so starker Alkalisierung auch in Tupfkolonien, in welchen bis dahin niemals Punktbildung beobachtet war, solche eintrat, wenn auch verzögert, und erst vom 7.–8. Tage an; so zeigte z. B. die Platte 37, neutrale Gelatine mit 0,4 ccm Sodalösung versetzt und in jedem Quadranten mit je 4 Tupfkolonien verschiedener, im Laufe der Zeit durch Abimpfung punktierter Kolonien erhaltener Stämme III, IV, VI und X beimpft, in jeder Kolonie die Bildung von Punkten; zugleich wurde durch diese Platte die verschieden große Fähigkeit der Stämme, die Gelatine zu verflüssigen, sehr deutlich vor Augen geführt, sowie diejenige, die Wuchsform der Kolonie zu ändern. Während bei dem Stamm III die grauen Kolonien nur in der Mitte einen kleinen, gelben Bakterienhaufen, in welchem nur schlecht die Punkte zu erkennen waren, enthielten und der Durchmesser bei allen 15–16 mm betrug, hatte der Stamm VI Kolonien von 9 mm Durchmesser gebildet mit einem kräftig punktierten Bakterienhaufen von 3 mm in der Mitte; Stamm IV zeigte nur eine geringe halbflüssige Zone mit durch Ausschwärmen entstandenen jungen Kolonien und etwa 3 mm Durchmesser (vgl. Fig. 60); Stamm X zeigte bis zu diesem Zeitpunkt gar keine Verflüssigung, jedoch große Punkte und Neigung, in Rosettenform weiterzuwachsen (vgl. Fig. 59). Die Fähigkeit, die Gelatine zu verflüssigen, scheint sich auf unseren Nährböden abgeschwächt zu haben; vielleicht hat hierzu, wenn auch nicht beabsichtigt, die Wahl der abgeimpften Kolonien beigetragen; es wurde bei dieser Auswahl an erster Stelle auf eine starke Punktbildung Rücksicht genommen, und solche Kolonien zeigten zu gleicher Zeit die geringste Verflüssigung. Zur Herstellung der verschieden starken Alkaleszenzen wurde die betreffende Menge steriler Sodalösung in die Schalen gebracht, hierauf die laue, nicht heiße Gelatine eingegossen und durch Umschwenken für gute Mischung gesorgt; die zuerst entstehende Trübung verschwindet vollständig; selbst bei sehr starker Alkalisierung mit 0,5 und 0,7 ccm Sodalösung trübte sich der Nährboden kaum; erst im Verlaufe der nächsten 2–3 Tage scheidet sich in diesem Falle etwas kohlensaurer Kalk an einzelnen Stellen aus.

Die Versuche, auf Agar punktierte Kolonien zu erhalten, waren auch nach Kenntnis, daß ihre Bildung durch starke Alkalität begünstigt wird, gescheitert; die Platte 32, mit 0,5 Sodalösung versetzt, zeigte weder mit dem Originalstamm I noch mit Stamm IV nach 19 Tagen eine Andeutung von Punktbildung; ich vermutete Mangel an Kalkverbindungen und half ihm durch Zusatz von neutraler Chlorcalciumlösung ab. Wenn der verwendete Agar schwach alkalisch ist und nicht wärmer als 40–45°, so mischt er sich mit der in die Schale getropften Chlor-

15*

calciumlösung, etwa 0,3 ccm einer Lösung von 5 g kristallisiertem Chlorcalcium in und zu 20 ccm, ohne mit ihr einen stärkeren Niederschlag zu geben, nur eine leichte Opaleszenz ist vorhanden; der Nährboden enthält dann etwa 0,3 Proz. wasserfreies Chlorcalcium. Auf einen solchen Nährboden, Platte 38, wurden dieselben Stämme wie bei Platte 37 als Tupfkolonien zu je 4 in jedem Quadranten übergeimpft; am 8. Tage zeigten sich in den 3—4 mm großen Kolonien des Stammes X reichlich Punkte, und zwar in allen 4; am folgenden Tage waren sie fast schwarz durch diese Kalkablagerungen geworden. In dem durch Fortwachsen gebildeten durchsichtigen Rande entstanden schöne an Rhomboëder erinnernde Kristalle, welche Fig. 66 in 100-facher Vergrößerung zeigt; auch hatten sich in den freien Zwischenräumen an einigen Stellen kleine Knollen mit deutlich kristallinischer und faseriger Struktur abgeschieden. Am 11. Tage zeigten 2 Kolonien des Stammes IV am Rande einige Punkte, die beiden anderen erst am 15. und 16. Tage. Bei Stamm VI waren ebenfalls 2 Kolonien am 13. Tage schwach punktiert, die beiden anderen noch nicht am 24.; auch der Stamm III zeigte keine Punktbildung bis zum 22. Tage; erst am 28. wurden bei einer Kolonie einige sehr kleine Punkte beobachtet. Trotz reichlicher Mengen von Kalkverbindungen haben sich also die 4 Stämme sehr verschieden verhalten; der Stamm III hat, kann man wohl sagen, gar keine Punkte auf Agar gemacht, während er auf alkalischer Gelatine sie, wenn auch in geringerer Menge als die anderen Stämme, zeigte.

Wenn feste Körper sich aus Lösungen abscheiden, setzen sie sich gern, besonders wenn die Lösungen stark verdünnt sind, an anderen festen Körpern, mit Vorliebe an rauen Stellen derselben an; falls sie kristallisieren, sind feste Massenteilchen von derselben chemischen Zusammensetzung, wie sie diese besitzen, die stärksten Anziehungspunkte in solchem Falle. Es überziehen z. B. Zucker, Kupfervitriol mit ihren Kristallen in den Gefäßen aufgespannte Fäden; es setzt sich bei der Nachweisung von Magnesia als phosphorsaure Ammon-Magnesia diese mit Vorliebe an rauen Stellen des Reagensglases an; Silber, aus Lösungen ausfallend, haftet vorzugsweise an schmutzigen Stellen des Glases und setzt sich am liebsten an schon vorhandene Silberteilchen an, wie bei den photographischen Verstärkungsmethoden; bei Bakterienkulturen jedoch befinden sich die häufig auftretenden Kristalle von Ammonium-Magnesiumphosphat in der großen Mehrzahl der Fälle frei im Nährboden; selbst wenn sie ihren Anfangspunkt im Bakterienrasen haben, wachsen sie von diesem in den Nährboden hinein, obgleich die Bakterienmasse der Bildungspunkt für das Ammoniak ist. Bei dem *Bacterium punctans* dagegen scheidet sich der gebildete kohlensaure Kalk in und auf der Kolonie ab, so daß diese eine matte, schneeweiße Oberfläche zeigt; vielleicht besitzen einige Keime in erhöhtem Maße die Fähigkeit, kohlensaures Ammon zu bilden, und sind die Anfangspunkte für die Abscheidung von kohlensaurem Kalk, dessen Masse dann nach den physikalischen Gesetzen, welchen die mineralischen Stoffe unterworfen sind, zunimmt. Vielleicht handelt es sich auch nicht nur um einfache chemische Umsetzung zwischen den Stoffwechselprodukten, sondern es ist die organische Bakterienmasse für die Bildung der Punkte wichtig; ich neige mich letzterer Ansicht zu, da die einzelnen Stämme sich hinsichtlich der Punktbildung doch recht verschieden verhalten, sowie ferner auf Grund der Beobachtung, daß der Luftraum in der Schale nach Entwicklung der Bakterien alkalisch reagiert; ein unter den Deckel

eingeführter Lackmustrreifen bläut sich in 10–30 Sekunden; selbst durch die Nase kann das Ammoniak erkannt werden, falls die Platte 24 Stunden bedeckt gestanden hat und man dann unter der Lupe abimpft. Würde es sich um einfache chemische Umsetzung handeln, so müßte sich der Nährboden bei so starker Alkalität des Luftraumes gleichmäßig an der Oberfläche mit Calciumkarbonat überziehen, wie dies ja auch geschieht, wenn man ihm größere Mengen Soda zugesetzt hat, oder wenn man den Ammoniakgehalt der Luft künstlich verstärkt durch Einlegen eines mit Ammoniak benetzten Stückes Fließpapier. Je nach Stärke der Alkalisierung bildet sich alsbald oder nach 24 Stunden ein den Nährboden bedeckender Niederschlag, welcher bei schneller Bildung aus kleinen Kristallen, bei langsamer aus größeren faserigen Knollen besteht, von denen häufig einzelne Strahlen nach allen Richtungen auslaufen. Beim *Bacterium punctans* dagegen trifft man in Gelatine-kulturen vorwiegend runde Formen, die sich unter Beibehaltung ihrer Form vergrößern, schließlich zusammenwachsen und sich zu einem festen Kalkkörper vereinigen, von welchem die Hauptmasse der Kultur durch Wasser fortgeschwemmt werden kann, so daß dieser Kalkkörper frei und wenig beschädigt erhalten werden kann (vgl. die Fig. 57); in Agar-kulturen kommen mitunter deutliche Rhomboëder vor (vgl. Fig. 66) oder Kristalldrusen (Fig. 67).

Klarheit darüber, ob und welchen Einfluß die Bakterien-substanz bei der Punktbildung hat, ist also noch nicht vorhanden.

Die Chlorcalcium-Agarplatte No. 38 bereitete mir am 9. Tage eine freudige Ueberraschung: Es hatten sich auf ihr 8 Luftkolonien angesiedelt, von denen 6 mit zahlreichen Punkten versehen waren; sie hatten also, trotz kürzerer Entwicklungszeit, ebenso reichlich kohlen-sauren Kalk abgelagert wie der Stamm X; 2 kleine von ihnen waren dick mit Kalkkristallen bedeckt; bei der 3., einer *Streptothrix*-Art, lagen die Punkte in der 6 mm großen, völlig runden Kolonie in der Mitte und am Rande, dazwischen ein von ihnen fast leerer Raum; die 4. Kolonie war halbdurchsichtig und zeigte stark vorspringende Zungen und tiefe Buchten bei 15–18 mm Durchmesser. Bei dieser lagen die Punkte hauptsächlich in den vorspringenden Teilen, sie fast schwarz machend; auch beim Weiterwachsen entstanden sie vorzugsweise an diesen Stellen, zugleich schied sich etwas Eisenhydroxyd ab, so daß diese Teile bei auffallendem Licht hell-rostfarben erschienen; diese letztere Kolonie wurde von dem gewöhnlichen *Wurzelbacillus* gebildet, wie sich später herausstellte. Die 5.–7. Kolonie waren für Photographie geeignet; sie sind in Fig 61–63 wiedergegeben. Alle Kolonien wurden auf Agar mit den No. 150–157 übertragen und alsbald von neuem 1) auf gewöhnlichen Dextroseagar, durch Lackmus gefärbt, und 2) auf Chlorcalciumagar ausgestrichen. Keine Kultur rötete den Dextroseagar, es wurde also in keiner Kultur Säure im Ueberschuß gebildet; der *Wurzelbacillus* war in 48 Stunden von einem Impfpunkt aus über zwei Drittel der Platte gelaufen. Auf dem Chlorcalciumagar dagegen wuchs er genau in derselben Art wie auf der Platte 38, und machte auch im Innern große Kalkpunkte vom 5. Tage ab. No. 156, ein orangefarbener *Bacillus*, zeigte vom 4. Tage ab in einzelnen Kolonien Punkte und war am 12. überall kräftig punktiert; bei No. 153 und 154 auf Platte 52 zeigten sich erst am 9. Tage an den Rändern großer Kolonien vereinzelte, rost- bis braunrote Einlagerungen, welche wegen der Dicke der Kolonien besser mit der Lupe in auffallendem Lichte zu sehen waren,

als unter dem Mikroskop. Die No. 150, 151 und 152 blieben bis zum 14. Tage ohne Punkte.

Die Fähigkeit, kohlensauren Kalk abzuscheiden, kommt also, wie es scheint, einer größeren Anzahl von Bakterien zu; sie hängt vielleicht mit der Fähigkeit zusammen, kräftig Ammoniak zu machen. Ich habe, um etwas klarer zu sehen, eine Anzahl gut bekannter Bacillen auf ihre Fähigkeit geprüft, Punkte zu bilden; es wurden zu diesem Zweck die *Bacilli alvei*, *asteroporus*, *granulosus*, *megatherium*, *oxalaticus*, *ruminatus*, *cohaerens*, *ellenbachensis*, *tumescens* sowie die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Arten: *Bacterium racemosum*, *Pseudomonas xanthe* und *Micrococcus sensibilis*, also 12 Arten,

1) auf Gelatine mit Zusatz von 0,3 ccm Sodalösung, Platte 57—62,

2) auf gewöhnlichen Agar nach Zusatz von 0,3 ccm Chlorcalcium, Platte 63—68, ausgestrichen und nach 12 Tagen folgendes Resultat erhalten:

a) Auf Gelatine wurde bei keiner Art Punktbildung bemerkt; die Mehrzahl verflüssigte den Nährboden nach 3—5 Tagen.

b) Auf Agar zeigten sich nur bei *Micrococcus sensibilis* nach 11—12 Tagen schöne, eckige Punkte; bei *Bac. tumescens* einige große Einlagerungen, bei *Bact. racemosum* viele Punkte in den dickeren Teilen des Ausstrichs, keine in kleinen Kolonien.

Da bei diesen Platten möglicherweise die Ammoniakatmosphäre gefehlt hatte, wurde bei den neu gegossenen Chlorcalcium-Agarplatten 70 bis 77 ein Quadrant mit dem *Bacterium punctans*, Stamm X, die anderen 3 mit verschiedenen Arten, nämlich 2 gut bekannten: *Micrococcus agilis* und *citreus agilis*, ferner mit dem *Bact. racemosum*, der *Pseudomonas xanthe*, dem *Micrococcus sensibilis* und 18 von punktierten Kolonien auf Chlorcalciumplatten abgeimpften Kulturen beimpft. Nach 14 Tagen ergab sich als Resultat, daß 12 Arten ohne Punktbildung geblieben waren, nämlich der rote *Micrococcus agilis* sowie die Kulturen 40—44, 61, 62, 64, 152 153 und 154 (die beiden letzteren zeigten bei dem vorhergehenden Versuch auf Platte 52 am Rande rostfarbene Kalkablagerungen) und 157. Punktiert dagegen erschienen 11 Arten, nämlich *Micrococcus citreus agilis* und *sensibilis*, *Pseudomonas xanthe*, *Bacterium racemosum*, die beiden *Streptothrix*-Arten 59 und 150 sowie die Kulturen 42, 158, 60, 151 und 156. Die Abscheidung des Kalkes geschah bei diesen von verschiedenen Zeitpunkten an; wenn man bei einigen in der Durchsicht dunklen Arten ungewiß ist, ob sie Kalk abgeschieden haben, bewirkt 1 Tropfen verdünnter Salzsäure, auf die Kolonie gebracht, sichere Entscheidung: selbst sehr geringe Kalkmengen verraten sich alsdann bei schwacher Vergrößerung durch die entwickelte Kohlensäure. Häufig habe ich dieses Mittel auch benutzt, um besonders bei fädigen Bacillen vorkommende, undurchsichtige Stellen, welche mit Kalkpunkten verwechselt werden können, von solchen zu unterscheiden, da sich ihr Ansehen kaum ändert und sie nicht verschwinden.

Die vorstehend mitgeteilten Versuche zeigen also, daß die Bedingungen, unter welchen die Abscheidung von Kalkeinlagerungen vor sich geht, noch nicht sicher bekannt sind; wahrscheinlich handelt es sich nicht um einfache chemische Umsetzungen, sondern die Substanz des Bakteriums spielt hierbei eine bevorzugte Rolle.

Das sonstige Verhalten des *Bacterium punctans* ist folgendes:

Die Oberflächenkolonien und sein Peptonisierungsvermögen sind bereits auf p. 223 angegeben; die Kolonien in der Tiefe sind etwas grobkörniger und kräftiger gefärbt, als diejenigen auf der Oberfläche, und mit feiner Linie umrandet; Verflüssigung wurde bei ihnen niemals beobachtet.

Anilinfarben werden leicht aufgenommen.

Die Färbung nach Gram fällt positiv aus.

Die Bildung des schwefelgelben Farbstoffes findet auf allen Nährböden statt, wenn auch die Kraft der Färbung verschieden ist. Eine sehr gesättigte Farbe zeigt der Rasen auf gewöhnlichem Agar; bedeutend heller, jedoch von demselben Farbenton, ist sie auf Spirillenagar; auch auf Kartoffel, auf welcher das Bacterium gut gedeiht und sich als matter, dicker Rasen allmählich ausbreitet, ist der Farbenton derselbe wie auf Agar.

Die Bildung des Farbstoffes geht bei völligem Ausschluß von Licht nach der Impfung ebenso gut vor sich, wie in zerstreutem Licht.

Im Gelatinestich breitet es sich nur auf der Oberfläche aus; erst nach Verflüssigung der Gelatine sinkt die Bakterienmasse nach unten; auch nach 3 Wochen ist die Verflüssigungszone kaum 10 mm tief.

Sein Verhalten auf anderen Nährböden ist bei dem *Bact. punctans flavum* angegeben.

V. *Bacterium punctans flavum*.

Eine weiße, mit gelbem Rande versehene Luftkolonie auf Agar bestand aus unbeweglichen Kokken und sehr beweglichen Kurzstäbchen. Nach Gewinnung einer Reinkultur der letzteren zeigten die Geißelpräparate von ihm eine auffallende Aehnlichkeit mit solchen von *Bact. punctans sulfureum*; da auch die Größe der Stäbchen, die von ihnen gebildeten Kolonien, das Peptonisierungsvermögen sehr ähnlich waren, glaubte ich, das *Bact. punctans* zum zweiten Male gefunden zu haben, zumal die betreffende Platte aus den 2 Treppen höher gelegenen Räumen des Instituts stammte und der Zufall ausgeschlossen war, daß von meinen Kulturen aus ein Keim sich auf diese Platte verirrt haben könnte. Erst spätere vergleichende Versuche mit diesem Bacterium und dem Stamm I und X von *Bact. punctans sulfureum* zeigten eine so bedeutende Anzahl von Unterschieden, daß ich es trotz seiner großen Aehnlichkeit abgetrennt habe; da der Farbton in seinen Kulturen stets ein reineres Hellgelb zeigt und ihm der grünliche Ton fehlt, welcher dem Schwefelgelb zukommt, habe ich es *flavum* benannt. Die Hauptunterschiede liegen in seinem Verhalten gegenüber einigen Zuckerarten und künstlicher Nährlösung; während *Bact. punctans sulfureum* neutralen Lackmus-, Maltose-, Rhamnose- und Drigalski-Agar bei Strichkultur rötet und diese Säuerung von den oberen Teilen des schrägen Agars allmählich nach unten fortschreitet, schließlich nach 12—14 Tagen bis zum Boden, besitzt *B. punctans flavum* nicht das Vermögen, aus diesen Stoffen Säure zu bilden; es bläut diese Agararten. Dasselbe ist bei beiden Arten der Fall bei Benutzung von Dextrose-, Mannit- und Saccharose-Agar; die neutrale Reaktion schlägt nach einigen Tagen in die alkalische um; schließlich erstreckt sich die Blaufärbung bis zum Boden.

Ein zweites, fast noch wichtigeres Unterscheidungsmerkmal bietet ein mit 0,2 Proz. Kaliumphosphat und 0,5 Proz. Asparagin in Leitungswasser hergestellter Agar. Während *B. punctans sulfureum*, auch nach kräftiger Impfung, nicht angeht, wächst *B. punctans flavum*

auf diesem Nährboden sehr gut, fast üppig, und ist kräftig beweglich (vgl. die von Geißelpräparaten solcher Kulturen stammenden Figg. 71 u. 72).

Weniger wichtig als Unterscheidungsmerkmale sind die folgenden:

Auf Loeffler-Serum wächst *B. punctans sulfureum* im Strich nur mäßig und bildet auch nach 14 Tagen nur einen ganz niedrigen, dunkelschwefelgelben Belag; bei *flavum* dagegen ist der Strich schon nach 5 Tagen dick, glänzend, von hellgelblicher Farbe und bildet nach 12 Tagen einen zum Abfließen neigenden Brei.

In der Farbstoffbildung macht sich auf allen Nährböden der grünliche Ton des gelben Farbstoffes bei *sulfureum* gegenüber dem helleren und reineren bei *flavum* bemerkbar; auch ist die Kraft der Färbung bei *flavum* eine geringere, als bei *sulfureum*; letzteres zeigt schon am 2. Tage einen dunkelgelben Strich auf gewöhnlichem Agar, während ersteres fast weiß erscheint.

Die Punktbildung tritt bei *flavum* stets später ein als bei *sulfureum*; es wurden, auf derselben gewöhnlichen Gelatine ausgestrichen, die ersten punktierten Kolonien bei *sulfureum* am 7., bei *flavum* am 11. Tage beobachtet; bei Benutzung von Chlorcalcium (0,3 Proz.)-Spirillenagar zeigten sich bei *sulfureum* die ersten Punkte am 3. Tage; am 4. waren auch kleine Kolonien von 0,35 mm Durchmesser kräftig punktiert und dunkelgelb; dagegen zeigte *flavum* noch am 9. Tage keine Punkte in den Kolonien, sondern nur einige in den dicken Ausstrichteilen, welche blaßgelb waren.

Das Peptonisierungsvermögen ist bei *flavum* stärker als bei *sulfureum*; es hat sich auch im Laufe der Arbeiten mit ihm nicht abgeschwächt. Macht man Ausstriche von beiden Bakterien auf derselben Platte, so ist bei *flavum* der dickere Ausstrich schon völlig verflüssigt, und einzeln liegende Kolonien sind mit verflüssigtem Hof umgeben, während *sulfureum* nur etwas eingesunken erscheint.

Auf Rinderserum wachsen beide Arten ähnlich wie auf Loeffler-Serum; 3 Wochen nach Impfung war das Serum halbflüssig geworden und nach unten gesunken, einen bernsteingelben Brei bildend.

Milch wird von beiden Arten sehr langsam verändert; das erste Anzeichen besteht in einer gelblichen Verfärbung, besonders an der Oberfläche; später, nach 2—3 Wochen, hat sich die Milch in eine klare, gelbrosa Flüssigkeit mit geringem Satz am Boden und gelbem Fett auf der Oberfläche verwandelt; die Reaktion ist stark alkalisch.

Sporenbildung wurde bei keiner der beiden Arten beobachtet; auch nicht auf sehr verdünnten Nährböden nach 12 Wochen.

Erklärung der Abbildungen.

Alle Photogramme sind bei 1000-facher Vergrößerung aufgenommen; Abweichungen von dieser Zahl sind bei den einzelnen Figuren angegeben.

I. *Bacterium racemosum*, Fig. 1—7.

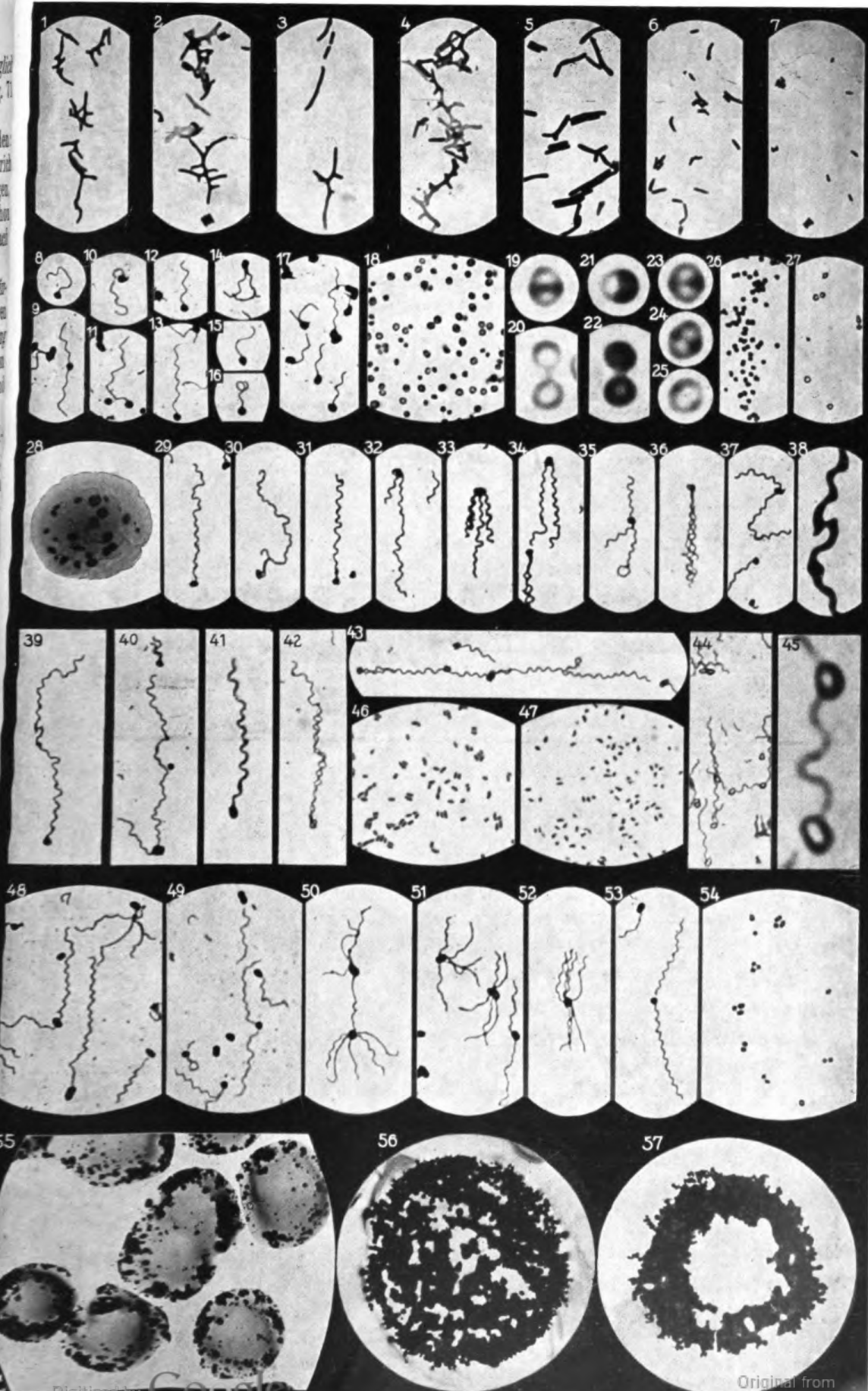
Alle Präparate sind mit Fuchsin gefärbte Trockenpräparate, in Kanadabalsam eingelegt.

Fig. 1 und 2 von der Originalkolonie; Breite der Fäden 0,5—0,6 μ , Länge 10—12 μ .

Fig. 3. Frische Reinkultur von Agar, auf Blutagar übertragen, zeigt bereits am 3. Tage Fäden und Beginn der Verzweigung.

Fig. 4. Dieselbe Kultur wie bei Fig. 3, jedoch am 11. Tage; zwischen abgestorbenen, verzweigten Fäden mit schwacher Färbung liegen lebenskräftige, stark gefärbte.

Fig. 5. Reinkultur von Agar, auf Loeffler-Serum übertragen, zeigt am 3. Tage die Bildung von sehr kräftigen, 0,7—0,8 μ breiten, 5—7 μ langen Fäden mit Ansatz zu Verzweigung, die jedoch später nicht weiter fortschreitet.



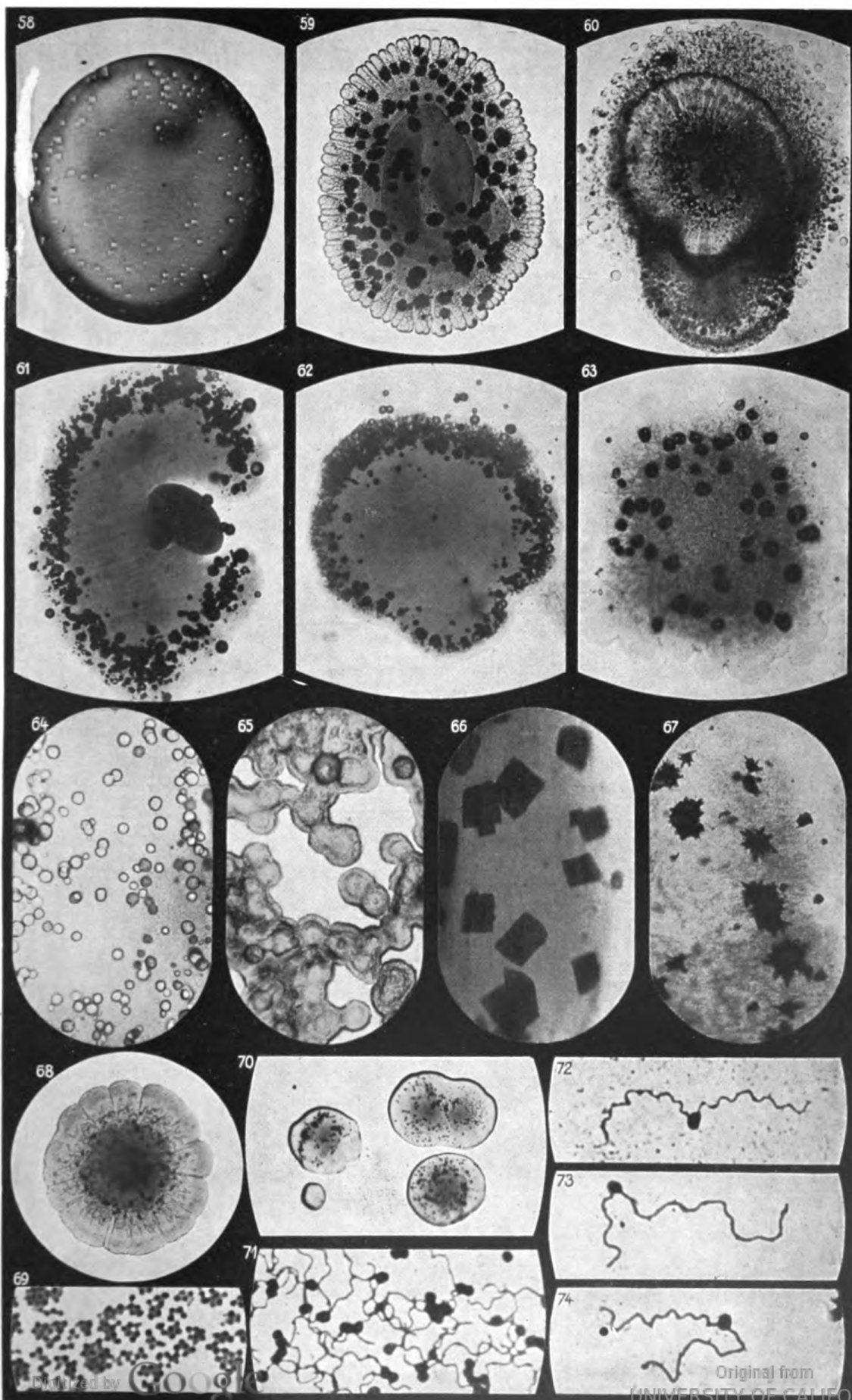


Fig. 6 von 2-tägiger Kartoffelkultur; Stäbchen meist $0,5\ \mu$ breit, $2\text{--}3\ \mu$ lang.

Fig. 7 von 36-stündiger, gut entwickelter Agarkultur; die Stäbchen infolge schneller Teilung selten länger als $1,5\ \mu$, meist $1\ \mu$ bei $0,5\ \mu$ Breite.

II. *Micrococcus sensibilis*, Fig. 8—28.

Fig. 8—16 Geißelpräparate in Kanadabalsam; 2-tägige Kultur auf Spirillenagar, nach neuer Methode fixiert; Fig. 17 von 20-stündiger Agarkultur. Diese Figuren zeigen, daß der Coccus selten 2 Geißeln besitzt, wie in Fig. 9 und 14; in der Regel ist nur 1 vorhanden, deren Länge $11,5$ und $10,5\ \mu$ erreichen kann, wie bei Fig. 11 und 13, meist jedoch $5\text{--}7\ \mu$ nicht überschreitet; die Breite der Geißeln beträgt nach starker Beizung und Silberung $0,2$ und $0,25\ \mu$; der Durchmesser der Kokken $1,1\text{--}1,3\ \mu$.

Fig. 18. Eintägige Kultur, lebend schwach mit Fuchsin gefärbt, in Wasser liegend photographiert; der Durchmesser der Kokken schwankt zwischen $0,7$ und $1,3\ \mu$ und zeigt Feinheiten der Färbung, welche bei den

Fig. 19—25, durch 5-malige Nachvergrößerung erhalten, also bei 5000-maliger Vergrößerung, besser erkennbar sind; bei diesen Figuren beträgt der Durchmesser $0,9\text{--}1,2\ \mu$.

Fig. 26. Eintägige Kultur; gewöhnliches Fuchsin-Trockenpräparat in Kanadabalsam. Durchmesser der einzelnen freiliegenden Kokken $0,75\text{--}0,9\ \mu$, der Teilungsformen $0,75\text{--}0,8 \times 1,5\ \mu$.

Fig. 27. Dieselbe Kultur wie bei Fig. 26, gebeizt und schwach gesilbert, in Wasser liegend; Durchmesser $0,9\text{--}1,1\ \mu$.

Fig. 28. Eine Kolonie mit Kalkablagerungen, gewachsen auf gewöhnlicher Institutsgelatine; 5 Tage alt. Vergr. 1:50.

III. *Pseudomonas xanthe*, Fig. 29—47.

Fig. 29—45. Geißelpräparate in Kanadabalsam. Die Breite der Geißeln beträgt $0,25\text{--}0,4\ \mu$; ist sie größer, $0,5\text{--}0,6\ \mu$, wie bei Fig. 41, so handelt es sich meist um 2 verschlungene Geißeln; auch bei Fig. 30 hat sich die kleine, vom Stäbchen ausgehende Geißel um die längere gelegt und dadurch die Breite auf $0,55\ \mu$ vermehrt; auch innerhalb einer solchen scheinbar einfachen Geißel schwankt die Breite, wie bei Fig. 41 deutlich zu erkennen ist. Die Länge der sicher einfachen Geißeln kann $19\text{--}20\ \mu$ betragen, wie Fig. 30 zeigt; sind 2 Geißeln von ziemlich gleicher Länge vorhanden, wie bei den Fig. 33—37, so beträgt die Länge $10\text{--}14\ \mu$; kürzere sind als noch nicht ausgewachsen oder zerbrochen zu betrachten. Geißeln über $20\ \mu$ haben ihre Länge wohl meist durch Anlagerung von freien Geißeln erlangt, wenn die Ansatzstelle auch nicht immer so leicht erkennbar ist, wie bei Fig. 39, von welcher die Fig. 38 die betreffende Stelle in 3-maliger Nachvergrößerung zeigt. Ueber die Fig. 40 und 43 ist das Nötige im Text auf p. 221 gesagt.

Fig. 44 zeigt eine Stelle eines schwach gesilberten, bei der Aufnahme in Wasser liegenden Präparates; nur Geißeln und Ektoplasma sind gefärbt; da bei der Reproduktion im Rasterdruck das helle Innere wahrscheinlich nicht gut sichtbar sein wird, zeigt Fig. 45 einen Teil dieses Bildes in 5-maliger Nachvergrößerung.

Fig. 46. Nasses Fuchsinpräparat einer 2-tägigen Agarkultur.

Fig. 47. Nasses Fuchsinpräparat einer 7-tägigen Agarkultur.

IV. *Bacterium punctans sulfureum*, Fig. 48—67.

Fig. 48—53 nach Geißelpräparaten in Kanadabalsam. Falls nur eine Geißel sich am Stäbchen befindet, kann sie, wie Fig. 48 zeigt, bis $20\ \mu$ lang werden; sind 2 vorhanden, so erreichen sie noch immer $10\ \mu$ Länge, wie bei den Fig. 49 und 51, mitunter sogar 13 und $15\ \mu$, wie bei Fig. 53; falls mehr als 2 Geißeln am Doppelstäbchen sich ausbilden, sinkt die Länge auf $7\text{--}8\ \mu$, wie bei den Fig. 50—52. Die Breite der Geißeln beträgt $0,25\text{--}0,3\ \mu$.

Fig. 54. Nasses Fuchsinpräparat von 24 Stunden alter Kultur auf Spirillenagar; Breite der Stäbchen $0,55\text{--}0,7\ \mu$, Länge $0,7\text{--}1,05\ \mu$.

Fig. 55. 3 Tage alte Oberflächenkolonien auf alkalisierten, vorher neutraler, gewöhnlicher Gelatine. Vergr. 1:30. Die Bildung der Kalkablagerungen hat hauptsächlich in den Randpartien stattgefunden; sie beginnt meist im Innern und schreitet fort, so daß schließlich ein festes Kalkgerüst in der Kolonie vorhanden ist.

Fig. 56 zeigt eine zusammenhängende Kalkablagerung innerhalb der in der verflüssigten Gelatine sich verteilenden Bakterienmasse. Vergr. 1:30.

Fig. 57. Kalkablagerung einer Kolonie, durch Schlämmen mit Wasser fast ungeschädigt erhalten. Vergr. 1:30.

Fig. 58. Eine Kolonie auf Gelatine mit sehr kleinen, schwarzen Punkten, welche durch $1\frac{1}{2}$ -stündige Behandlung mit Formalindämpfen gelöst wurden und daher als helle Lücken erscheinen. Vergr. 1:50.

Fig. 59. Eine Tupfkolonie des Stammes X auf stark mit 0,4 Proz. alkalisierten, vorher neutraler Gelatine am 9. Tage. Vergr. 1:15. Keine Verflüssigung der Gelatine; abweichende Struktur mit Beginn von Rosettenbildung; große Kalkpunkte.

Fig. 60. Eine Tupfkolonie des Stammes IV am 7. Tage auf derselben Platte wie bei Fig. 59. Beginn der Verflüssigung; Bildung von jungen Kolonien durch Ausschwärmen. Vergr. 1:15.

Fig. 61—63. Drei Kolonien unbekannter Bakterien, entstanden aus Luftkeimen auf einer mit 0,3 Proz. Chlorcalcium versetzten Agarplatte, sie zeigen Ablagerungen von Kalk; bei Fig. 61 und 62 fast nur am Rande der Kolonie, bei Fig. 63 in fast gleichmäßiger Verteilung. Vergr. 1:30.

Fig. 64. Teil einer punktierten Kolonie von *Bact. punctans sulfureum*, nachdem sie 20 Stunden lang Formalindämpfen ausgesetzt war; die kleinen, schwarzen Kalkpunkte sind fast aufgelöst. Vergr. 1:100.

Fig. 65. Wie 64, jedoch 20 Minuten Essigsäuredämpfen ausgesetzt; durch diese sind auch die dickeren Kalkablagerungen stark aufgehellt. Vergr. 1:100.

Fig. 66. Rand einer Tupfkolonie Stamm X auf Chlorcalciumagar mit deutlichen Rhomboedern von kohlensaurem Kalk. Vergr. 1:100.

V. *Bacterium punctans flavum*, Fig. 67—74.

Fig. 67. Rand einer Tupfkolonie auf Agar mit Kristalldrusen von kohlensaurem Kalk.

Fig. 68. Eine Kolonie auf gewöhnlicher Institutsgelatine, 6 Tage alt, mit eben beginnender Punktierung und Anfang von Rosettenbildung. Vergr. 1:30.

Fig. 69. Färbung nach Gram: lange mit Alkohol entfärbt.

Fig. 70. Die gewöhnliche runde Form der Kolonien auf alkalisierten Gelatine; 4 Tage alt. Vergr. 1:10.

Fig. 71 und 72. Geißelpräparate mit Material von Asparagin-Kaliumphosphat-Agar; die Länge der Geißeln bei Fig. 72 beträgt 16 und 17 μ , die Breite 0,3 und 0,4 μ .

Fig. 73 und 74. Material von Spirillenagar; bei Fig. 73 beträgt die Länge der Geißel, den Biegungen nach gemessen, 35 μ , bei Fig. 74 21 und 23 μ ; die Breite dieser Geißeln, 0,5 μ , ist auffallend groß, obgleich sie einfach sind; sie erklärt sich dadurch, daß die Präparate aus Versehen einige Stunden in der Beize gelegen hatten.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Veränderlichkeit von Choleravibrionen.

[Aus dem k. k. hygienischen Institute der deutschen Universität Prag.]

Von Prof. Dr. Oskar Bail, Prag.

Die nachfolgenden Untersuchungen, welche die Veränderlichkeit von Choleravibrionen, also einen schon seit längerer Zeit von verschiedenen Forschern, insbesondere Baerthlein und Eisenberg, behandelten Gegenstand betreffen, wurden mehr durch einen Zufall veranlaßt. Eine frisch während der Herbstepidemie am nördlichen Kriegsschauplatze in Neu-Sandetz gewonnene Cholerakultur (No. 226) wurde in der Menge von je 1 Agarkultur in 10 ccm Kochsalzlösung und aktivem Rinder Serum durch 8 Tage bei 42° behandelt. Dabei war im Serum eine massige Agglutination erhalten geblieben, während sich in Kochsalzlösung nur noch ein sehr geringer, schleimiger Satz in gleichmäßig opaleszenter Flüssigkeit vorfand. Agarplatten, die aus beiden Proben angelegt wurden, ergaben aus Rinder Serum nicht sehr zahlreiche, aber ganz schulgerechte glatte, glänzende, bläulich durchscheinende, mikroskopisch gleichmäßig fein gekörnte Kolonien. Ein ganz anderes Bild wies die Platte aus der Kochsalzlösung auf, indem höchstens $\frac{1}{10}$ der Kolonien das oben beschriebene Bild der normalen Cholerakolonien aufwies, während alle

übrigen derart abweichend aussahen, daß, trotz der Kenntnis der Mutationsarbeiten bei Cholera, zunächst durchaus an eine Verunreinigung gedacht wurde. Eine weitläufige Beschreibung dieser eigenartigen Kolonien erübrigt sich aus dem Grunde, weil die von Eisenberg gegebenen Photogramme (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. Taf. I. Fig. 6, 7) die Form ganz genau wiedergeben. Mit Recht findet sich bei Eisenberg der Ausdruck, daß solche Wuchsformen an den *B. mesentericus* erinnern. Es ist nicht ganz ohne Bedeutung, daß ganz genau die gleiche „Mutation“, die Eisenberg gefunden hatte, bei einem ganz frisch aus menschlicher Krankheit gezüchteten Stamme aufgetreten ist. Da ohne Zweifel auch andere Autoren die gleiche Form bei anderen Stämmen auftreten sahen, so weist dies auf ein wahrscheinlich jedem Cholera-vibrio eigenartiges Abweichungsvermögen hin. Auch im gefärbten Ausstrich wiesen die Angehörigen der trockenen, runzeligen Kolonien Besonderheiten auf, wie sie bereits Baerthlein hervorgehoben hat: normale schlanke Vibrionenformen waren selten gegenüber verhältnismäßig kurzen, dicken, wenig gekrümmten Vibrionen, die sehr oft eine unterbrochene Färbbarkeit hatten. Nicht selten waren rein kokkoide Gebilde. Auf Bouillon wuchs die runzelige Abart (R) kaum trübend, unter Bildung einer schon nach 6—8 Stunden fertigen, weißgrauen, gefalteten Haut, während der Ausgangsstamm (G) deutlich trübte und nach 12 Stunden nur eine Verdichtung des Wachstums an der Oberfläche zeigte, die erst nach mehr als 24 Stunden in Hautbildung überging. Auf schiefem Agar trat die Runzelung besonders stark hervor und erinnerte, abgesehen von der stets mehr glatten Beschaffenheit der äußeren Ränder, ganz auffallend an das Wachstum junger *Mesentericus*-Kulturen.

Von je einer Kolonie G und R der Ausgangsplatten angelegte Kulturen wurden durch Immunsrum in ganz gleicher Weise agglutiniert. Die Besonderheiten der Wuchsform blieben auf der nächsten Platte erhalten, und nunmehr wurde die Beständigkeit fortlaufend in der Weise geprüft, daß immer je eine Kolonie G und R in Bouillon oder Peptonwasser abgeimpft, dieses 1—2 Stunden bei 37° gehalten und dann als Ausgang für eine neue Platte benutzt wurde. Dabei ergab sich bereits in der zweiten Plattenfolge eine neue Abweichung. Aus G wuchs zwar einformig wieder G, aus R ging aber auf 12—15 Kolonien von R immer eine auf, die sich der glatten Ausgangsform näherte, aber durch eine deutliche Runzelung und trockeneres Aussehen der Mittelanteile deutlich unterschied. Allerdings waren, besonders bei Betrachtung mit schwacher Vergrößerung, in großer Zahl Uebergangsbilder zwischen der Stärke und Menge der Runzelung aufzufinden; mit freiem Auge ließ sich aber der Unterschied zwischen den alten Formen R und G und der neuen Gr ohne weiteres festhalten.

Daß gleichwohl Gr nur eine Uebergangsform zwischen G und R war, zeigte sich besonders im Agarstriche, welcher förmlich aus G in den äußeren und R in den mittleren Anteilen (außerdem feinere Runzelung) zusammengesetzt war. In der angegebenen Weise mit kurzer Generationsfolge wurde die Züchtung, bei der somit jede Generation nur wenig über 24 Stunden alt wurde, durch fast einen Monat (26 Generationen) fortgesetzt mit dem Ergebnisse einer vollkommenen Beständigkeit der 3 Formen: R lieferte stets nur trockene, runzelige, G nur glatte, feuchte Kolonien, Gr behielt die gemischten Eigenschaften, wobei allerdings auf der gleichen Platte stets Kolonien mit mehr oder weniger starker Runzelung, mit breiterem oder schmalerem, glattem Rande zu finden

waren; Zweifel an der Zugehörigkeit zu Gr entstanden aber niemals. Der Versuch machte ganz den Eindruck, als wenn die 3 Formen, in welche sich der Stamm bisher gespalten hatte, bei gleicher Versuchsanordnung unbegrenzt lange hätten erhalten werden können. So oft während dieser Zeit auf Schrägagar oder in Bouillon abgeimpft wurde, trat immer die oben erwähnte Eigenart des Wuchses hervor.

Läßt man aber eine solche Kultur älter werden und untersucht nach verschiedenen Zeiten die daraus auf Agarplatten aufgehenden Kolonien, so hört die Beständigkeit sehr bald auf. So wurde eine Agarstrich- und Bouillonkultur der XVI. Zuchtfolge aller 3 Formen bei Zimmertemperatur stehen gelassen, wobei zu bemerken ist, daß die daraus unmittelbar gezüchteten Folgen XVII--XXVI bei kurzer Generationsdauer anscheinend volle Beständigkeit aufwiesen. Nach 30 Tagen wurden aus den Agarstrichkulturen von G und Gr, aus der Bouillonkultur von R neue Platten angelegt. Aus G wurden etwa 200 Kolonien erhalten, die ohne Ausnahme rein glatt waren. Aus Gr war von etwa 200 Kolonien zwar die Mehrzahl wieder Gr, aber etwa 10 Proz. gehörten einer neuen, bisher nicht beobachteten Form an, welche sich durch ganz flache, ungefähr runde, trockene und matte Kolonien auszeichnete, die sich außer durch ihre bedeutende Größe durch eine sehr feine und gleichmäßig netzige Runzelung unterschieden. Sie behielt dieses Aussehen in der nächsten Plattenfolge bei, ging aber in der übernächsten, in ganz gleicher Weise hergestellten (Abimpfung einer einzelnen Kolonie in Bouillon, nach 1 Stunde 37° Agarplatten) Plattenkultur vollständig in die Form R über, die sie durch weitere 11 Züchtungen beibehielt.

Noch auffälliger war das Ergebnis der aus der alten Bouillon von R angelegten Platte, welche ausschließlich Kolonien lieferte, die sich vom glatten Ausgangsstamme G nur durch größere Flachheit unterschieden, aber keine Spur von Runzelung mehr zeigten. Bei Weiterführung von 3 kurzlebigen Generationen kam ausschließlich die reine Stammform zum Vorschein.

Einfaches Alternlassen hatte somit die am meisten abweichende Form R vollständig verschwinden und in die Stammform G zurückschlagen lassen, die Uebergangsform Gr, der man derartige Veränderungen ihrem Aussehen nach eher zugemutet hätte, hatte sich besser erhalten, hatte sich dafür aber nach Ausbildung einer ganz vorübergehenden Wuchsform zum Teil in R umgewandelt.

Daß dabei von einer gesetzmäßigen Umwandlung keine Rede sein kann, bewies der folgende Versuch, bei dem Agarstrichkulturen, die von einzelnen Kolonien G, Gr und R gewonnen waren, zunächst 30 Tage bei Zimmertemperatur stehenblieben. Sodann wurde die ganze Kulturmasse in Kochsalzlösung aufgenommen, mittels Glasperlen gleichmäßig zerschüttelt und so auf Platten verimpft, daß möglichst nur einzelnstehende Kolonien wachsen konnten. Dabei ergab G ausschließlich glatte Kolonien, die bei 5-maliger kurzdauernder Generation ausnahmslos glatt blieben; aus Gr wuchsen etwa 200 Kolonien, von denen 15 ganz R entsprachen und bei rascher Züchtungsfolge rein blieben, während die übrigen zwar noch in der Mitte eine gewisse Runzelung zeigten, sich aber sonst sehr dem Ausgangsstamm genähert hatten. Abimpfung einer solchen Kolonie auf Peptonwasser, Stehenlassen durch 2 Stunden bei 37° und dann angelegte Agarplatte lieferte etwa 500 Kolonien, deren größte Mehrzahl wieder das Aussehen von Gr hatte, welches durch 4 kurzlebige Generationen blieb; 20 Kolonien waren flach, matt, fein gerunzelt (sahen

aber anders aus, als die im vorigen Versuch erwähnten). Die Form hatte keinen Bestand und ging schon bei der nächsten Plattenfolge ganz in R über. Aus der alten Kultur von R wurden nur 81 Kolonien erhalten, von denen 62 bis auf eine größere Flachheit ganz G entsprachen und rein weiterzüchteten, während die übrigen auffallend klein, sonst aber wie R aussahen, zu dem sie in der Folge wurden.

Im ganzen hatten somit beide Versuche insofern Uebereinstimmung gezeigt, als sich die Stammform G als beständig erwiesen hatte und R sehr leicht in sie zurückschlägt; der Uebergangsstamm Gr verändert sich weniger und zeigt größere Neigung (unter Bildung von ganz kurzlebigen Zwischenstufen), zu R zu werden, als zu G zurückzuschlagen.

Bei höherer Temperatur wurde ein ähnlicher Erfolg schon in sehr kurzer Zeit erreicht; dabei wurden von einzelnen Kolonien der Formen R, Gr und G Peptonwasserkulturen angelegt und bei $41,5^{\circ}$ gehalten. Nach 2 Tagen ergab der Ausstrich einer Oese von G zahlreiche Kolonien, durchaus G, von R ebenfalls nur Kolonien von R; hingegen waren von etwa 2000 Kolonien der Platte Gr nur noch etwa $\frac{1}{10}$ Gr, die übrigen entsprachen R und züchteten bei kurzer Generationsfolge rein weiter (4 Generationen). Nach 4 Tagen lieferten G nur G, Gr diesmal nur Gr, hingegen war in R in vereinzelter Kolonien ein vollständiger, rein weiterzüchtender Rückschlag zur Stammform G eingetreten.

Wie schon die früheren Versuche gelehrt hatten, ist aber für den Rückschlag von R zu G die Maximaltemperatur von $41,5^{\circ}$ nicht nötig, und man kann das Entstehen des Rückschlages gelegentlich einer Kultur ansehen.

So wurden aus der XXV. Generation der Reinzüchtung der 3 Formen Agarstrichkulturen angelegt. Nach 17-tägigem Aufenthalte bei Zimmertemperatur war R im ganzen zwar in gewohnter Weise als trockene, weißgraue Auflagerung mit etwas erhabenem Rande und zahlreicher Runzelung gewachsen, aber im unteren, etwas verbreiterten Teile des Striches schloß sich an die trockene Auflagerung eine schmale Zone an, die ganz das glatte Aussehen der Stammform hatte. Bei genauer Untersuchung fanden sich dann auch im oberen Teile des Striches an 2 Stellen kleine, stumpf ausgebuchtete, glatte Ausläufer; Abimpfungen von da ergaben in großer Menge glatte Kolonien.

Ein noch viel auffälligeres Beispiel von Veränderlichkeit ergaben Bouillonkulturen, die gleichzeitig mit den Agarstrichkulturen des vorhergehenden Versuches angelegt worden waren.

Aus 1 Oese der Kultur von G wuchsen etwa $\frac{1}{8}$ der Kolonien wieder als G (mit der Bezeichnung Gg abgeimpft), $\frac{1}{8}$ als Gr, wobei aber die Runzelung nur auf die ganz in der Mitte liegenden Anteile der Kolonie beschränkt, dort aber gut ausgesprochen war, und überdies fanden sich 7 Kolonien, die alle Merkmale von R darboten. Die in wenig NaCl-Lösung aufgeschwemmten Kolonien Gg, Grg und Rg wurden sofort auf neue Platten ausgestrichen, wobei aus Gg und Grg nur die Stammform G wuchs, aus Rg nicht mehr R, sondern bei 2000 Kolonien nur Gr, welches sich aber in den nächsten 4 Generationen vollständig in G umwandelte. So war aus der ursprünglichen G-Kultur nach recht auffallenden, aber unter der Hand verschwindenden Formen wieder nur die Stammform übriggeblieben.

Aus 1 Oese Gr wuchsen über $\frac{9}{10}$ wieder Gr, etwa $\frac{1}{10}$ hatte die Merkmale von R, doch wurden diese Formen leider nicht weiter auf Beständigkeit untersucht. Aus 1 Oese R gingen über die Hälfte der Kolonien als reines G hervor, die rein weiterzüchteten, der Rest erschien als R, doch wuchsen schon in der nächsten Plattengeneration nur mehr Gr heran.

Aus allen Bouillonkulturen waren somit Varianten hervorgegangen, aber es gibt deren offenbar von zweierlei Art: während die einen Beständigkeit, wenigstens bei kurzdauernder Generationsfolge, zeigen, sind die anderen, obwohl sie sich äußerlich den ersteren ganz gleich verhalten, ganz wenig gefestigt und verschwinden unter der Hand.

Einen in kurzer Zeit geradezu verwirrenden Wechsel von Formen lehrte die Verfolgung der eben erwähnten Formen Gg, Grg und Rg kennen. Sie waren auf der Platte aus der alten Bouillonkultur von G entstanden, wurden aus ihr in Bouillon überimpft, und diese Kulturen wurden während eines Aufenthaltes bei 37° in mehrtägigen Zwischenräumen auf Platten untersucht. Dabei wurden nicht nur makroskopische Besonderheiten berücksichtigt, sondern auch solche, welche erst bei Betrachtung mit schwacher Linse hervortraten und sich auf Glätte und Einbuchtung sowie Fältelung des Randes, auf konzentrische Schichtung, teils nur die Zeichnung betreffend, teils mit Vorwölbung verbunden, auf Runzelung der Kolonien bezogen, die wieder nur die Mittelteile der Kolonie oder diese ganz betrafen oder speichenförmig bis zum Rande verliefen oder netzartig waren u. ä. Bei Berücksichtigung dieser Unterschiede ergaben sich nicht weniger als 17, in den ersten Platten sehr gut gekennzeichnete Veränderliche, welche bei sofortiger Aufnahme in Kochsalzlösung und Ausstreichen auf Platten die Besonderheiten entweder ganz oder doch nur leicht abgeschwächt beibehielten. In der Folge hörte das aber auf, manche Formen gingen in der zweiten Generation ohne weiteres in die Stammform über, andere zeigten Uebergänge und neue Formen, die teils mit schon früher gefundenen übereinstimmten, teils noch nicht beobachtete Merkmale aufwiesen, die aber ebenfalls schnell verschwanden. So waren schließlich über 30 Formen gezüchtet; ihre Beschreibung erübrigt sich, da keine einzige Bestand hatte, die meisten nur eine Generation überlebten, um zur Stammform zurückzuschlagen oder als Gr und R zu einer beschränkten Beständigkeit zu gelangen. Andeutungen einer Gesetzmäßigkeit von Auftreten und Verschwinden waren bei bestem Willen nicht zu erkennen, und so blieb als Ergebnis der sehr umfangreichen Arbeit nur die Erkenntnis zurück, daß die glatte, schulgerechte Stammform des Choleravibrio die ursprüngliche und artgemäße, dabei aber der allermannigfachsten Veränderlichkeiten fähig ist, welche unter gewissen, derzeit noch nicht näher zu bestimmenden Umständen in erstaunlicher Häufigkeit auftreten können. Es gibt dafür eine Art von sensibler Periode, wenn man diesen Ausdruck von de Vries hier anwenden darf; denn bei allen sonstigen Versuchen mit dem Stamme Cholera 226 und seinen Abkömmlingen erreichte die Fülle der Abweichungen nicht entfernt den Grad, wie in diesem Versuche, wo die in einer alten Bouillonkultur eben gebildeten, selbst wenig gefestigten Veränderlichen zu wiederholter Einzelzüchtung kamen.

Es ist schon erwähnt worden, daß die Form R, wie sie hier auftrat, um innerhalb 4 kurzdauernder Züchtungen zu G zurückzukehren, physiologisch offenbar etwas ganz anderes ist, als der anfangs erhaltene Stamm R, der sich durch 26 kurze Generationen unverändert hielt, obwohl beide morphologisch nicht zu unterscheiden waren. Man erhält dadurch den Eindruck, daß zur Entstehung einer Veränderlichen schon ein sehr geringer Anstoß genügt, daß aber dann noch ein anderer Einfluß dazukommen müsse, der die hier überhaupt erreichbare Erbllichkeit derselben herbeiführt. Den Ausdruck „Mutation“ darf man freilich auf solche Formen nicht anwenden.

Einige der auffallendsten Formen, die beobachtet wurden, seien kurz beschrieben, obwohl eine eingehende Untersuchung wegen ihrer Kurzlebigkeit meist nicht durchzuführen war.

Form: Grandis entstand bei der Züchtung von Rg bei 37° am 7. Tage in ganz vereinzelt Kolonien von ganz fremdartigem Aussehen zwischen überwiegend G und Gr. Sie waren bis 7 mm breite, ganz flache, trockene und matte Scheiben, die sich

bei schwacher Vergrößerung mit fein erhabenen, dichten, vielfach anastomosierenden Wülsten überdeckt zeigten. Im Präparate bestand sie vollständig rein aus mitteldicken, gut gekrümmten Vibrionen, mit schwach plasmolytischer Farbaufnahme. Auf Serumzusatz 1:2000 trat mikroskopisch sofort Agglutination ein. In der nächsten Agarplatte traten unter 1722 Kolonien, die noch als *Grandis* anzusprechen waren, aber viel kleiner wuchsen, 6 rein glatte auf.

Die folgende Platte ergab auf 231 rein glatte Kolonien 282 *Grandis*, die aber sich schon sehr verändert hatten und dem nachstehend beschriebenen *Circumvallatus* nahestanden. Die am meisten der früheren Erscheinung ähnliche Kolonie ergab dann überhaupt keine *Grandis*-Kolonie mehr, sondern nur glatte mit zerstreuten Gr und Uebergängen beider.

Form: *Annulatus*, entstanden bei Züchtung der Form Grg in Bouillon am 2. Tage in etwa 20 Kolonien. Auch sie erschien größer als die gleich alte Stammform G und zeigte einen inneren, nicht streng runden, gleichmäßigen, scheibenförmigen Anteil, der von einer breiten, ringförmigen Außenschicht umgeben war, die weißtrocken aussah und zahllose feine, radiär gestellte Fältelungen aufwies; die Begrenzung der Kolonie bildete ein schmaler, über die Fläche der anderen Teile deutlich erhabener Rand, der unter dem Mikroskope wieder eine feinste, netzige Faltung zeigte. Die Kolonie sah eher einer solchen eines Luft-*Actinomyces* als der einer Cholera ähnlich, bestand aus Vibrionen, die sich nicht deutlich von der Stammform unterschieden und auf Serum (1:2000) sofort agglutinierten. Die folgende Plattenzüchtung ergab bereits weit über die Hälfte glatte Kolonien, der Rest ließ noch die *Annulatus*-Form erkennen, aber in einer Art, die sofort den Uebergang dieser höchst merkwürdigen Form in die Stammform erklärte. Schon die Beobachtung mit freiem Auge ergab eine viel schwächere Ausprägung der Ringform, doch waren die speichenartig gestellten Wülste noch sehr gut zu sehen; sie wuchsen bis zum Rande der eigentlichen Kolonie und über diesen hinaus, da aber ganz glatt (mikroskopisch gleichmäßig fein granuliert), so daß der *Annulatus*-Kolonie am Rande zahlreiche, glatte Auswüchse, wie Baumschwämme einem Stamme, aufsaßen. Mitunter überwallten die Auswüchse die *Annulatus*-Kolonie wie einen Fremdkörper¹⁾. Abimpfungen von diesen glatten Auswüchsen, wie von den inneren Anteilen der Kolonie ergaben überhaupt keine *Annulatus* mehr, sondern nur ein Gemisch von G und Gr, welche letztere aber in der nächsten Zuchtfolge bereits ganz zu G geworden waren, wobei nur eine öfters nachweisbare Runzelung geringsten Grades abweichend war.

Etwas beständiger erwies sich die Form *Circumvallatus*, die wiederholt auftrat: Kleine Kolonien, sehr trocken, weiß und gefaltet aussehend; schon bei Betrachtung mit freiem Auge fällt der stark gewulstete, öfters kreidigweiß aussehende Rand auf. Bei schwacher Vergrößerung gehen von einem dunklen, mehr oder minder deutlich genabelten Innenfelde starke Wülste ungefähr sternförmig aus, die sich mit dem stark aufgewulsteten und selbst gefalteten Rande vereinigen. Die Kolonie stellt gewissermaßen die zum Äußersten ausgebildete R-Form dar und hängt so fest in sich zusammen, daß sie sich in Flüssigkeit kaum verteilen läßt; mikroskopisch besteht sie aus kurzen, dicken, sehr oft plasmolysierten Vibrionen. Die Form züchtete in der nächsten Generation mit etwa 1400 Kolonien rein weiter, doch erschien hier bereits, ähnlich wie bei der Form *Annulatus*, Wachstum ganz glatter, fein gleichmäßig granulierter Auswüchse in Fortsetzung der sternförmigen Falten über den Kolonierand hinaus. Manche Kolonien wurden so von der glatten Wuchsform ganz überwallt, und überdies traten auf ihrer Oberfläche in großer Zahl kleine bis kleinste Tochterkolonien als Wärrchen auf. Noch in der nächsten Folge bestand die Mehrzahl der gewachsenen Kolonien aus *Circumvallatus*, doch fanden sich bereits viele, teils einzeln stehende, teils mit *Circumvallatus* zusammenhängende, glatte Kolonien. In den nächsten Plattenzüchtungen wuchsen 193 *Circumvallatus* auf 31 glatte, dann wurde das Verhältnis 129:34, dann ungefähr gleichviel von Glatt und *Circumvallatus*, dann 324 glatt auf 33 *Circumvallatus*. Dabei war aber der so ausgesprochene Charakter der *Circumvallatus*-Form immer mehr in den der gewöhnlichen R-Form übergegangen, und die letzten Züchtungen ergaben 122 Glatt auf 96 R und 67 Glatt auf 61 R.

Man gewinnt aus der Beobachtung solcher Versuche die Gewißheit, daß dem Choleravibrio eine sehr große Veränderlichkeitsbreite in bezug auf seine Kolonieform eigen ist, die gelegentlich, unter nicht genauer bekannten Umständen, ganz besonders zum Vorschein kommt und dann

1) Solche Erscheinungen sind auch an Kolonien anderer, veränderlicher Bakterien mehrfach beschrieben, z. B. an älteren Kolonien von modifizierten Friedländer-Bacillen (Toeniessen, Biol. Centralbl. Bd. 35. p. 302).

zur Ausbildung von Formen dient, die niemand mehr ohne genauere Kenntnis als zu Cholera gehörig ansprechen würde. Immerhin läßt sich ungefähr erkennen, daß diese Veränderlichkeit ganz bestimmten Richtungen folgt. Es ist beim bloßen Anblicke der Eindruck zu gewinnen, daß so abenteuerliche Formen, wie *Annulatus* und *Circumvallatus* nichts anderes seien, als äußerste Ausbildungen der Form R, andere Veränderliche standen wieder in Beziehung zu Gr. Danach wäre die Veränderlichkeit auf gewisse Typen beschränkt; man hätte zu unterscheiden zwischen den Typen G, R und wahrscheinlich Gr. Diese zeigen auch eine gewisse Erblichkeit und können unter bestimmten Bedingungen rein, vielleicht beliebig lange, weitergezüchtet werden. Tritt der Stamm in eine sensible Periode ein, so kommen neue Formen in großer Zahl auf, die aber wieder um die 3 Typen schwanken, sich aus ihnen ableiten lassen und wenigstens teilweise in sie zurückschlagen¹⁾. Dabei herrscht aber stets eine überwiegende Neigung zum Rückschlag in die sicher als Urform anzusehende Form: „Glatt“ vor, und es ist bezeichnend, daß gerade die alleräußersten Veränderlichen, wie *Annulatus* und *Circumvallatus*, unmittelbar aus einer, eher an *Actinomyces* erinnernden Wuchsform in die des glatten Typus übergehen. Bei der Form R wurde derartige nur bei älteren Agarstrichkulturen beobachtet; bei ihnen geschah es an sehr vielen Kolonien am ersten Tage.

Stets ist hervorgehoben worden, daß die veränderte Kolonieform auch von Veränderungen der Gestalt und Färbbarkeit der Vibrionen innerhalb dieser Kolonien begleitet ist, und die bereits von Baerthlein betonte abweichende Gestalt der Vibrionen seiner „trockenen“ Kolonien, die wahrscheinlich R entsprechen, konnte durchaus bestätigt werden. An Uebergängen fehlt es aber auch dabei nicht, und abweichende Kolonieform, wie z. B. die Form *Grandis*, enthielt Vibrionen, die nur sehr unwesentlich und unsicher von dem Aussehen derer der Stammform zu unterscheiden waren²⁾.

Um namentlich die Bedingungen des Ueberganges der verschiedenen Formen ineinander näher zu ermitteln, wurden nunmehr die beiden abweichenden, verhältnismäßig beständigen Formen R und Gr, von gutentwickelten Einzelkolonien ausgehend, teils in gewöhnliche Bouillon, teils in solche eingimpft, in der die beiden Formen vorher durch 21 Tage gewachsen waren. Solche Bouillon ist in der Regel durch Absetzen der Bakterienmassen an sich klar, wurde noch mehrfach durch Papier filtriert und durch Erhitzen auf 60° sterilisiert; sie ist in verschiedenem Grade gelbrot gefärbt. Die darin gelöste Leibessubstanz und die Stoffwechselerzeugnisse der Vibrionen sollten auf ihren umwandelnden Einfluß untersucht werden, da bekannterweise das Altern von Zuchten überhaupt das beste Mittel ist, Veränderlichkeiten bei Bakterien hervorzurufen.

1) Daß diese Typen tatsächlich im Artbegriffe des *Cholera vibrio* festgelegt sind, beweist die Tatsache, daß wenigstens einige Veränderliche wie R bereits von anderen Untersuchern an ganz anderen Stämmen aufgefunden wurden und, wie die folgenden Versuche mitzeigen, wahrscheinlich regelmäßig entstehen. Es ist so gut wie sicher, daß auch Formen, die den beschriebenen mehr minder ähnlich sind, von früheren Untersuchern gesehen wurden. Namentlich weisen darauf die Photogramme von Eisenberg hin.

2) Daß auf Veränderungen im Aussehen der Vibrionen kein allzu großer Wert zu legen ist, bewiesen Verf. die praktischen Untersuchungen an Cholera stühlen. Was aus solchen in der ersten Generation auf Peptonwasser aufgeht, sind bei der mikroskopischen Untersuchung oft alles andere als ausgeprägte Vibrionengestalten, und erst

Form R, gezüchtet in frischer Bouillon bei 37°:

- Nach 2 Tagen ergab eine Oese, auf Agarplatten ausgestrichen, in größter Mehrzahl R, aber auch 2 vollkommen reine, glatte Kolonien.
 Nach 3 Tagen: 203 R, die hier und da am Rande glatte Ausläufer zeigen, 7 rein G.
 Nach 7 Tagen: nur noch etwa $\frac{2}{3}$ der Kolonien R, der Rest größtenteils glatt, aber auch mehrfach in Uebergängen Gr.
 Nach 9 Tagen: 89 R zu 93 Glatt, dabei nur die rein glatte Form, während R seine Kennzeichen mehr verwischt hat.
 Nach 12 Tagen: von 216 Kolonien sind 81 rein glatt, die übrigen nicht, aber keine einzige ist mehr typisch R, nur ihr Mittelanteil ist stark gewulstet (viel ausgeprägter als bei Gr), der Randanteil glatt.
 Nach 15 Tagen: es ist fast nur Gr vorhanden, nur 6 Kolonien von 260 sind glatt.
 Nach 18 Tagen findet sich weder eine reine R, noch eine rein glatte Kolonie, nur Gr in allen möglichen Uebergängen.
 Nach 21 Tagen tritt wieder R auf, Glatt fehlt ganz, Gr herrscht weitaus vor.
 Form R, gezüchtet in frischer Bouillon bei 41,5°:
 Nach 2 Tagen: nur R, an zwei Stellen Annäherung an die Grandis-Form.
 Nach 3 Tagen: 1900 Kolonien, nur R.
 Nach 5 Tagen: 1500 Kolonien, nur R.
 Nach 7 Tagen: zahlreiche Kolonien, ohne Ausnahme R, hier und da deren Kennzeichen weniger ausgesprochen.
 Nach 9 Tagen: von etwa 1000 Kolonien zeigen nur 2 bei stark gerunzelter Mitte glatte Randanteile, sonst R.
 Nach 12 Tagen: nur R.
 Nach 15 Tagen: nur R, selten Annäherung an Gr.
 Nach 18 Tagen: nur R, aber weniger stark ausgeprägt.
 Nach 21 Tagen: nur R.

Bei 37° ist somit der Rückschlag zur Ausgangsform sehr schnell und später in großem Maßstabe eingetreten, oft unter Bildung von Gr

die Agglutination oder die sonstige weitere Untersuchung sichert die Erkennung. In diesem Zusammenhange sei auch auf einen anderen Punkt hingewiesen, wo die sehr reichliche praktische Erfahrung den betrübenden Stand unserer gegenwärtigen bakteriologischen Diagnostik erweist, die Dysenteriefrage. Wenn schon die Kolonieform der Cholera so weitgehende Veränderlichkeit aufweisen kann, um wieviel mehr wird dies bei einer anerkannt hinfälligen physiologischen Eigenschaft, wie der der Zuckervergärung, die dazu noch von den verschiedensten Nebenumständen beeinflusst wird, der Fall sein. Wie, wenn im veränderten Darm für den Erreger eine sensible Periode, überhaupt eine Beeinflussung eintritt, was ja schon von verschiedener Seite, z. B. für die größere oder geringere Mitagglutination und Paragglutination angedeutet worden ist? Tatsächlich hat eine sehr große Erfahrung gelehrt, daß Stämme, die unmittelbar nach der Reinzüchtung als Shiga-Kruse oder Flexner oder y angesprochen werden mußten, bei späterer Nachuntersuchung ganz andere Vergärung zeigten, oder daß Farbveränderungen auf festen Nährböden (Mannit, Maltoseagar) anders auftraten als auf den entsprechenden Barsiekow-Lösungen. Dazu kommt die Erfahrung, daß verschiedene Institute (vom Standpunkte der gegenwärtigen Forschung jedes mit Recht) bei der Diagnosestellung verschieden vorgehen, die einen z. B. der Agglutination, die anderen der Vergärung die überragende Bedeutung beilegen. Bei einer Dysenteriebekämpfung, die auch die gegenwärtig nicht seltenen, Bacillenträger zu beachten hat, kann dies alles von der größten, unmittelbar praktischen Bedeutung werden. Verf., der Gelegenheit hatte, bei einer solchen Gelegenheit die Ergebnisse von weit über 2000 systematischen Stuhluntersuchungen zu verwerten, hat die vollkommene Unsicherheit der gegenwärtigen Dysenteriediagnostik sehr schmerzlich empfunden. Es ist ihm nicht zweifelhaft, daß die als Erreger anzusprechenden Bakterien der allergrößten Veränderlichkeit fähig sind, und daß man unglücklicherweise gerade die am meisten veränderliche Vergärfähigkeit zum Unterscheidungsmerkmale erhoben hat. Für praktische Zwecke wird nichts übrig bleiben, als willkürlich die für die Diagnose ausschlaggebenden Merkmale festzusetzen. So anfechtbar, ja selbst lächerlich es sein mag, einem Bacillus kommissionell vorzuschreiben, wie er sich zu verhalten habe, in der Praxis erlangt man damit doch einen festen Punkt, und die Erfahrung hat bisher gelehrt, daß man damit auskommen kann. Die wissenschaftliche Erforschung wird aber bei Festhalten an einer natürlichen Art, die zunächst willkürlich aufgestellt wird, deren Veränderlichkeitsbreite unter möglichster Berücksichtigung der Erbllichkeit zu ermitteln haben, dann wird sich der vielleicht falsch aufgestellte Begriff der Art entsprechend verbessern lassen. Die gegenwärtige Aushilfe der Aufstellung von „Gruppen“ ist schwerlich ein Vorteil.

und schwer unterzubringenden Uebergangsformen, so daß nach 18 Tagen R ganz verschwunden schien; 3 Tage später trat es aber wieder auf. Es ist selbstverständlich nicht zu sagen, ob hier eine neue Entwicklung von R vorliegt, oder ob die Ursache nur daran liegt, daß die Aussaat von einer Oese einfach zu wenig Vergleichsmaterial liefert; die Unmöglichkeit, auch nur einen größeren Teil aller vorhandenen Einzelbakterien zu züchten, wird bei Versuchen über Bakteriensterblichkeit stets einen Einwand bilden. Die Temperatur von $41,5^{\circ}$ hat in diesem Versuche unzweideutig verfestigend auf die Erhaltung der Eigenschaften des Stammes R gewirkt.

Form R, gezüchtet in Bouillon nach Wachstum von G bei 37° .

Nach 2 Tagen: nur 10 Kolonien erhalten, ausschließlich R.

Nach 3 Tagen: etwa 1200 Kolonien, nur R, selten Annäherung an die Grandis-Form.

Nach 5 Tagen: 412 R auf 3 voll-tändig reine G, ohne Uebergänge.

Nach 7 Tagen: 243 R, wobei vielfach Annäherung an Gr stattfindet, und 182 G.

Nach 9 Tagen: 77 rein R auf 162 G, ohne merkbare Uebergänge.

Nach 12 Tagen: unter 272 Kolonien nur 2 R, sonst alle G.

Nach 15 Tagen: 122 G auf 19 R, die sich aber alle mehr oder weniger Gr nähern.

Nach 18 Tagen: 114 G auf 16 R, die typisch ausgebildet sind.

Nach 21 Tagen: 133 G auf 9 R.

Die gleiche Züchtung bei $41,5^{\circ}$ ergab niemals Wachstum.

Form R, gezüchtet auf Bouillon nach Wachstum von R bei 37° .

Nach 2 Tagen: etwa 1400 Kolonien, alle rein R.

Nach 3 Tagen: Platte zu dicht besetzt, aber anscheinend nur R.

Nach 5 Tagen: heftiger Rückschlag, 122 R auf 135 G; dabei die Kennzeichen von R meist gut ausgesprochen, selten Annäherung an Gr.

Nach 7 Tagen: 196 R auf 65 G, ohne merkbare Uebergänge.

Nach 9 Tagen: 105 R auf 92 G.

Nach 12 Tagen: 214 R auf 60 G, aber R wenig ausgesprochen, sehr oft Annäherung an Gr.

Nach 15 Tagen: ähnliches Verhältnis, R-Merkmale wenig ausgesprochen.

Nach 18 Tagen: R weit überwiegend, aber vielfach von Gr kaum zu trennen.

Nach 21 Tagen: G ist selten, fast nur R und Gr.

Bei $41,5^{\circ}$ erfolgte in der erschöpften Bouillon kein Wachstum.

Auch unter diesen Bedingungen, unter denen die Temperatur von $41,5^{\circ}$ bereits ein Wachstumshindernis ist, tritt somit der Rückschlag in die Stammform wie auch in die Form Gr schon nach wenigen Tagen hervor, wird allerdings nicht so stark, wie bei Verwendung frischer Bouillon.

Form Gr, gezüchtet in frischer Bouillon bei 37° .

Nach 2 Tagen: nur Gr.

Nach 3 Tagen: fast nur Gr, 2 Kolonien aber fast glatt, nur in der Mitte dichter als normal, aber kaum mehr gerunzelt.

Nach 5 Tagen: Gr herrscht vor, aber die Mittenrunzelung ist sehr schwach ausgesprochen, eine sehr geringe Zahl von Kolonien ist rein glatt, überdies finden sich 22 Kolonien rein R (unter etwa 2000).

Nach 7 Tagen: etwa $\frac{1}{4}$ rein G, die übrigen Gr aber in sehr verschiedener Ausbildung, teils G genähert, teils schon R-ähnlich, überdies 2 Grandis.

Nach 9 Tagen: bei oberflächlicher Betrachtung anscheinend rein glatt, erst im durchfallenden Lichte tritt bei etwa $\frac{1}{10}$ in der Mitte Runzelung hervor.

Nach 12 Tagen: 116 rein G auf 102 zweifellose Gr.

Nach 15 Tagen: 152 G, 83 Gr.

Nach 18 Tagen: nebeneinander G, R und Gr, 135:44:62 mit Uebergängen.

Nach 21 Tagen: $\frac{1}{3}$ G, sonst Gr, aber oft in R übergehend.

Form Gr, gezüchtet in frischer Bouillon bei $41,5^{\circ}$.

Nach 2 und 3 Tagen: nur Gr.

Nach 5 Tagen: ganz ähnlich der bei 37° erhaltenen Platte, aber R viel häufiger und Uebergänge von R zu Gr so mannigfach, daß schwer zu sagen ist, was eigentlich vorliegt.

Nach 7 Tagen: anscheinend wieder rein Gr, dabei aber die Mittenrunzelung sehr wenig ausgesprochen.

Nach 9 Tagen: ganz ähnlich wie bei 37°.

Nach 12 Tagen: nur Gr mit sehr schwacher Runzelung der Mitte der Kolonien.

Nach 15 Tagen: sehr schwer zu beurteilen; ganz reines G fehlt, aber die Runzelung der Kolonienmitte ist so wenig deutlich, daß die Unterscheidung schwer fällt.

Nach 18 Tagen: wie nach 15 Tagen, aber vereinzelte Kolonien rein R.

Nach 21 Tagen: R verschwunden, anscheinend nur Gr, aber von G kaum zu unterscheiden.

Nur in den allerersten Tagen hält sich somit Gr rein, dann beginnen die Veränderungen, die meist in einem so allmählichen Hinübergleiten zu G stattfinden, daß wirklich oft kaum zu sagen ist, was vorliegt. Die Form R hat sich nur vereinzelt herangebildet; von der verfestigenden Wirkung einer erhöhten Temperatur ist viel weniger als bei der Form R zu merken.

Form Gr, gezüchtet in Bouillon nach Wachstum von G bei 37°.

Nach 2 und 3 Tagen nur Gr, nach 5 Tagen ebenso, aber mit Uebergängen zu G und R.

Nach 7, 9 und 12 Tagen stets weitaus überwiegend Gr, einzelne R. Nach 15 Tagen ist das Aussehen der Kolonien einheitlich, wahrscheinlich noch als Gr zu bezeichnen, aber mit kaum merkbarer Runzelung der Mitte. Nach 18 und 21 Tagen ist kaum mehr zu bezweifeln, daß ein vollständiger Rückschlag zu G eingetreten ist, obwohl noch bei einzelnen Kolonien eine stärkere Ausbildung der Mittelteile vorhanden ist.

Ganz ähnlich mit allmählichem, aber vollständigem Rückschlage zu G verlief der Versuch der Züchtung von Gr in einer durch Wachstum von R erschöpften Bouillon; nur am 5. Tage waren unter etwa 1000 Kolonien 20 R aufgetreten. Bei 41,5° erfolgte weder auf der durch R noch durch G erschöpften Bouillon Wachstum.

Der immer stärker werdende Rückschlag zur Stammform ist hier sehr deutlich und am Schlusse anscheinend vollkommen, allerdings wieder durch schwer zu beurteilende Uebergänge hindurch, eingetreten. R hat sich ganz vereinzelt herangebildet.

Der beschriebene Versuch wurde nun noch so erweitert, daß aus der letzten Plattenkultur von R nach 21-tägiger Züchtung bei 41,5° eine Kolonie mit scharf ausgeprägten Merkmalen von R in 2 Röhrchen mit Bouillon übertragen wurde, wovon dann das eine in eine Temperatur von 37°, das andere in 41,5° kam. In ganz gleicher Weise wurde aus der entsprechenden Platte von Gr in durch G erschöpfter Bouillon eine durch Rückschlag entstandene, rein glatte Kolonie gezüchtet. Die Impfungen erfolgten anfangs in kurzen, später in längeren Zwischenräumen.

Züchtung von R bei 37°.

Nach 2 Tagen: bereits sehr starker Rückschlag, 122 G auf 26 R.

Nach 4 Tagen: etwa gleichviele R und G ohne Uebergänge.

Nach 9 Tagen: gleichviel R und G.

Nach 18 Tagen: 72 G auf 112 R, dabei aber viele der letzteren wenig ausgesprochen, sich Gr nähernd.

Nach 28 Tagen: G gewinnt wieder entschieden ein Uebergewicht, 93 G und 27 R, davon aber 10 Kolonien sehr ähnlich Gr.

Nach 41 Tagen: Es findet sich überhaupt keine typische Kolonie von R mehr; die weitaus meisten Kolonien sind G, aber etwa $\frac{1}{10}$ sind sehr klein, erscheinen im auffallenden Lichte ziemlich glatt, sind aber im durchfallenden fast ganz dicht, undurchsichtig; mikroskopisch erscheinen sie wie geschuppt durch sehr viele hellgranulierte, kleine Auflagerungen, zeigen aber keine Runzelung. Weiterimpfung über Bouillon, 1 Stunde 37°, Platte, ergibt Kolonien, die nicht so groß werden wie G, sonst aber damit übereinstimmen¹⁾.

Nach 45 Tagen: das gleiche Bild.

1) Derartige kleine Kümmerformen von Kolonien finden sich in alten Kulturen der verschiedensten Bakterien; sie gehen in der Regel sehr bald in die Stammform über. Vgl. dazu Eisenberg: dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 73. p. 450 bei B. prodigiosum.

Nach 60 Tagen: kein R, nur G und die beschriebenen Kümmerformen von G.

Züchtung von R bei 41,5°.

Nach 2 Tagen schon sehr starker Rückschlag: 155 G auf 127 R.

Nach 4 Tagen: 92 R auf 16 G.

Nach 9 Tagen: nur rein R, ohne glatte Kolonien.

Nach 18 Tagen: 72 R, 3 rein G, einzelne Gr.

Nach 28 Tagen: alle Kolonien müssen wohl noch als R bezeichnet werden, sind aber sehr klein, mehr halbkugelig, trocken und gerunzelt.

Nach 41 und 45 Tagen finden sich ausschließlich kleine, runde, etwa halbkugelige, trocken aussehende Kolonien, bei denen man nur im durchfallenden Lichte eine schwache Runzelung als etwas glitzernden Stern wahrnimmt. Mikroskopisch erscheinen sie hellgranuliert; der Rand erhebt sich in ziemlich regelmäßiger, sternförmiger Anordnung. Bei der nächsten Plattenzucht wurden alle aufgehenden Kolonien zu reinen R, die aber sämtlich schon im Alter von 18 Stunden am Rande ganz oder abschnittsweise in glattes Wachstum übergangen.

Nach 60 Tagen war die Zucht vollkommen abgestorben.

Züchtung von G bei 37°

Nach 2 Tagen: nur G.
 " 4 " ebenso.
 " 9 " nur G, aber bei einigen Kolonien die Mitte stärker ausgeprägt.
 " 18 " nur G, aber etwa 2 Proz. der Kolonien klein und in der Mitte leicht gerunzelt.
 " 28 " nur G, aber neben den gewöhnlich großen auffallend kleine Kolonien, die mit zahlreichen, hellen Schuppen besetzt sind.
 " 41 " wie nach 28 Tagen.
 " 45 " wenige Kolonien, wie nach 28 Tagen.
 " 60 " wenige Kolonien, nur noch klein, bei weiteren Zuchten als G, nur anfangs kleiner wachsend.

Züchtung von G bei 42°

nur G.
 ebenso.
 nur G, aber mit öfters stark markiertem Mittelteil.
 wie nach 9 Tagen.
 Das Bild ist ganz dem entsprechenden der Zucht R ähnlich; neben glatten kleine, gerunzelte Kolonien.
 Ist von jetzt an genau dem Bilde von R bei 42° gleich und bleibt so in den sehr wenigen Kolonien, die nach 42 Tagen aufgehen, wonach die Zucht abstirbt. Es blieb zuletzt nur die Kümmerform von R übrig.

In diesem Versuche hatte sich R wieder, und zwar diesmal sowohl bei 37 als 41,5° als durchaus unbeständig erwiesen, mit größter Neigung zum Rückschlag zur Stammform; G zeigte bei 37° im ganzen nur sehr geringe Neigung zur Abwandlung, obwohl die Züchtung nahezu bis zum Absterben der Kultur fortgesetzt wurde; eine Folge davon war das Auftreten ungewöhnlich kleiner Kümmerformen von Kolonien, die mit einer geringen Andeutung von Erblichkeit (I. Zuchtfolge) in die Ausgangsform zurückkehrten. Ebenfalls Kümmerformen bildeten sich auch bei 42° aus, aber sie gehörten nicht mehr G an, sondern wurden zu R bei weiterer Züchtung. Es sieht aus, als ob sich R nur über ein Degenerationsstadium von G bilden könnte, und wenn nicht andere, unzweifelhafte Versuche dafür vorliegen würden, daß R aus G auch in frischeren Zuchten entstehen kann, würde der Versuch im Sinne von Czernel (dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 68. p. 450) sprechen, der Choleramutation und Degeneration in einen sehr engen Zusammenhang zu bringen geneigt ist.

Der Mitteilung der erlangten Versuchstatsachen sollen keine größeren theoretischen Schlußfolgerungen beigegeben werden, obwohl die Versuche in der Absicht einer klärenden Uebersicht über die Erblichkeit von Bakterienveränderungen unternommen wurden und festgestellt werden kann, daß die Ergebnisse in wichtigen Punkten mit denen anderer

Untersucher an anderen *Cholera*stämmen übereinstimmen. Daraus ergibt sich der Schluß, daß das Bekannte nicht nur einmal und zufällig zu beobachten war, sondern daß der *Cholera*vibrio überhaupt in wahrscheinlich gesetzmäßiger Weise sehr weitgehende Abweichungen seiner schulgerechten Eigenschaften durchmachen kann.

Die Angabe von Baerthlein (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. 1912. u. a. a. O.), daß die Mutanten bei kurzlebiger Zuchtfolge beständig, sonst aber zu Rückschlägen geneigt seien, fand volle Bestätigung, dabei aber die Erweiterung, daß „Mutanten“, die der Kolonieforn nach ganz gleich aussehen, in Hinsicht ihrer erblichen Beständigkeit auch bei kurzlebiger Züchtung ganz verschieden sein können. Auch in einem anderen Punkte, der Gestalts- und Färbungsverschiedenheit der Mutanten von der Stammform, ließ sich, im Gegensatze zu Czernel, eine Bestätigung der älteren Angaben beibringen, mit der Einschränkung allerdings, daß die Verschiedenheit keineswegs eine durchgreifende ist. So bestehen die R-Kolonieen größtenteils aus kurzen, meist sehr wenig gekrümmten, dicken und dabei sehr oft plasmolytisch gefärbten Stäbchen; aber es finden sich genug Uebergänge zu der gewöhnlichen Vibrionenform, und andere, sehr abweichend gebaute Kolonieen enthalten nur solche normale Vibrionen. Eisenberg, der in seinen eingehenden, eine größere Zahl von Stämmen berücksichtigenden Untersuchungen sicher die hier beschriebene R-Form, wahrscheinlich aber auch Gr (Taf. III. Fig. 12) und der Form *Annulatus* ähnliche (Taf. II. Fig. 10) in der Hand hatte, fand, daß Veränderliche verschiedener Stämme sich erblich verschieden verhielten. Er erwähnt insbesondere 2 Stämme, die offenbar ähnlich dem hier untersuchten Stamme spalteten, indem ihre „dunkle“ (R-)Form schon nach wenigen Tagen außer Uebergangsformen helle Kolonieen (G) bildete, während diese weit beständiger waren. Auch Olsson (dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 76. p. 23) sah in Düngerkulturen von *Cholera* wahrscheinlich die hier beschriebenen Formen entstehen; seine AB III-Kolonie ist jedenfalls R sehr nahestehend, ABI und AB II entsprechen vermutlich Gr, BA stellt jene Entwicklungsstufe von R (an den Formen *Annulatus* und *Circumvallatus* besonders beobachtet) dar, wo von einer gerunzelten Kolonie glattes Wachstum ausgeht oder eine solche von glattem Wachstum ganz überwallt wird. Bemerkenswert ist auch die Untersuchung der Beweglichkeit der abweichenden *Cholera*-formen, die Olsson durchführte, sowie sein Versuch, äußere Bedingungen für das Eintreten von Veränderungen aufzufinden. Er gibt an, eine zyklische Entwicklung des *Cholera*vibrio festgestellt zu haben, indem er z. B., seiner Kolonieforn nach, bei Züchtung in Dünger 2—6 Wochen typisch bleibt, nach weiteren 4—6 Wochen nur noch bei 37°, nicht bei niedriger Temperatur mehr typisch wächst, dann bei Züchtung in frischem Dünger auch bei 37° gerunzelte Kolonieen bildet, dann aber bei täglicher Ueberimpfung auf Agar wieder allmählich typisch wird. Die Untersuchungen von Olsson erschienen erst, als die vorliegenden wesentlich abgeschlossen waren; sie bringen ohne Zweifel wertvolle Gesichtspunkte, sind aber in manchen Punkten nicht klar. Er scheint hauptsächlich mit Massenkulturen gearbeitet zu haben, deren Gesamteindruck er im Auge hat, wenn er angibt, daß „immer nur ein Teil der Kultur, und zwar eine größere oder geringere Zahl einzelner Individuen, umgewandelt wird“. Jedenfalls ist aber auch er jenen Untersuchern zuzurechnen, welche eine Unbeständigkeit der mutierten Formen fanden, und zu denen auch Forscher gehören, die Mutationen anderer

Bakterien untersuchten, wie Toeniessen bei gewissen Veränderlichen des B. Friedländer (Biolog. Centralbl. Bd. 35. p. 281 u. an anderen Stellen), Markl bei Pest (dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 74. p. 524) u. a.

Beschränkt man sich auf die Besprechung des Cholera-vibrio, so fällt vor allem auf, wie alle Untersucher bei den verschiedensten Stämmen doch im wesentlichen gleiche oder einander sehr nahestehende Abweichungen als Mutanten beschrieben haben. Der Vibrio bildet somit keineswegs beliebig neue Formen, sondern die Veränderlichkeit schwankt innerhalb gewisser Grenzen, die für alle Stämme unveränderlich zu sein scheinen. Es ist darauf hinzuweisen, daß die hier nicht beobachtete, schon von Kolle, Kruse u. a. aufgefundene Ringform doch von späteren Beobachtern, wie Baerthlein, Eisenberg, der ihr Zustandekommen erklärt, wiedergefunden wurde, daß also auch sie in die normale Veränderlichkeitsbreite des Vibrio hineinfällt. Diese Fähigkeit, unter Umständen, von denen das Altern der Zuchten am meisten wirksam zu sein scheint, andere Wuchsformen, aber wesentlich immer die gleichen, anzunehmen, fällt gewissermaßen in den Artbegriff des Cholera-vibrio hinein; es ist eine Eigenschaft desselben, wie jede andere auch. Innerhalb der gegebenen Grenzen kann eine weitere Veränderung stattfinden, die bei halbwegs eingehender Unterscheidung verschiedener Kolonieformen die Aufstellung sehr zahlreicher Veränderlicher ermöglichen kann, die aber schon durch das bloße Aussehen sich als Uebergänge oder vielmehr als Schwankungen um gewisse Veränderlichkeitstypen herum bewegen. Hier sei gleich darauf hingewiesen, daß die eigenen Untersuchungen sich stets auf junge Kolonien beschränkten, während beim Altern der Kolonien (Eisenberg, Czernel) noch viel zahlreichere Abweichungen auftreten; für Erblichkeitsstudien scheint aber die alleinige Berücksichtigung junger Kolonien erforderlich.

Im allgemeinen tritt die normale Veränderlichkeit der Kolonieform, mit der auch Veränderungen im sonstigen Wachstum (z. B. die auffallende Hautbildung schon in jungen Bouillonkulturen) in erklärbarer, Veränderungen der Einzelform der Vibrionen in noch genauer zu ermittelnder Weise zusammenhängen, unter den gewöhnlichen Zuchtverhältnissen nur wenig hervor; beim Altern von Zuchten und wahrscheinlich auch noch unter anderen Verhältnissen lassen sich die möglichen Veränderlichen leicht gewinnen, wie namentlich die vergleichenden Untersuchungen zeigen (Eisenberg, Olsson), bei manchen Stämmen leichter, bei anderen schwerer. Dieser Umstand erklärt sich aber leicht aus der weiteren, hier mitgeteilten Beobachtung, daß gelegentlich der Vibrio in einen Veränderlichkeitstaumel gerät, wo in kürzester Zeit die allerabweichendsten Kolonieformen erscheinen, allerdings auch dann, ohne daß sie etwas anderes als Schwankungen um einen Mitteltypus oder äußerste Uebertreibungen desselben darstellen würden.

Das wird dann durch die Untersuchung der Erblichkeit bekräftigt. Alle die verschiedenen Formen, die im Laufe der Untersuchung aufgetreten waren, schlugen doch, nach längerer oder kürzerer Zeit, mittelbar oder unmittelbar wieder in die glatte Urform zurück. Bei genügend langer Züchtung und Verfolgung der Koloniebildung einiger (leider immer nur verhältnismäßig weniger) Angehörigen der Zuchten kann es zu recht verwickelten Ergebnissen kommen, so wenn z. B. R anfangs teilweise in G und Gr zurückschlug, später anscheinend vollständig verschwand,

um schließlich wieder aufzutreten. Es ist möglich, daß das einfach auf der Unvollkommenheit des Arbeitens beruht, welches stets nur den allergeringsten Bruchteil der Angehörigen einer Zucht zu untersuchen gestattet, doch kann dies schwerlich die einzige Erklärungsmöglichkeit sein; viel wahrscheinlicher ist es, daß hier eine mehrfache „Mutation“ vorliegt, indem sich wirklich alle zuerst gebildeten R in G umwandeln, diese selbst aber in folgenden Generationen neuerlich R abspalten. So kann das Bild einer Zucht im gegebenen Augenblicke ein ungemein buntes werden.

Ein nicht unwichtiges Ergebnis der Untersuchung scheint in der Feststellung vorzuliegen, daß die möglichen Veränderlichen des Cholera-vibrio, bei ganz gleicher äußerer Erscheinung, innere Verschiedenheiten aufweisen, die erst durch Ermittlung der Erbllichkeit sich erweisen lassen. Es unterliegt, ebenfalls in Uebereinstimmung mit früheren Untersuchern, keinem Zweifel, daß gewisse Formen des Cholera-vibrio, von der Stammform so weit abweichend wie R, eine unzweideutige Erbreinheit aufweisen, so daß sie bei gleichbleibender Zuchtweise sich durch 26 Folgen rein fortpflanzen und den Anschein erwecken, als ob ihre Reinerhaltung unter den gleichen Bedingungen für unbegrenzte Zeit möglich sei. Wieder andere, der Koloniform nach vollständig übereinstimmende R-Kulturen ließen sich auch bei Beobachtung derselben Züchtungsart nur über wenige Folgen erhalten und gingen rasch, meist unmittelbar, in die Stammform G über. Es ist schon bemerkt worden, daß dieses Verhalten die Einwirkung eines Umstandes voraussetzt, der die in der Art enthaltene Veränderungsmöglichkeit in bestimmter Richtung festlegt. Hat man also den Ausgangsstamm G vor sich, so ruft ein Umstand, z. B. einfaches Alternlassen einer Zucht, die schlummernde Veränderlichkeit wach, und es bilden sich die den Verhältnissen nach möglichen Veränderlichen, etwa Gr und R. Wirkt auf diese jetzt ein anderer Umstand, etwa bestimmte Stoffwechselerzeugnisse oder ungewöhnliche Temperatur, durch einige Zeit ein, so wird die Veränderliche mehr oder weniger erbfest. Würde derartige im Darne eines Cholera-kranken entstehen, also verschiedene Formen des Vibrio zur Ausscheidung kommen (daß dies möglich ist, deuten Gildemeister und Baerthlein neuestens, Münch. med. Wochenschr. 1915. No. 21, an), so würde auch ein geübter Bakteriologe, ohne Kenntnis der Veränderlichkeitsbreite, wahrscheinlich gar nicht daran denken, sich durch Agglutination von der Cholera-natur seines Befundes zu überzeugen, und er könnte nur bei Weiterzüchtung durch eintretende Rückschläge zur Stammform aufmerksam werden. Wäre es aber möglich, daß die Veränderliche R unter besonderen Verhältnissen erblich so verfestigt ist, daß sie nicht mehr Neigung hat, zur Stammform G zurückzuschlagen, als gegenwärtig G die Neigung hat, sich in R zu verwandeln, so könnte der erwähnte Bakteriologe bei einer späteren Untersuchung finden, daß Cholera-serum die beiden durch Wuchs auf allen Nährböden und auch durch die Zellgestalt verschiedenen Bakterien in gleicher Weise beeinflußt, daß also die Agglutination nicht brauchbar ist. Es ist ja wohl nicht zu fürchten, daß eine derartige Möglichkeit für Cholera wirklich wird; ob wir bei der Diagnosestellung für andere Bakterien nicht einem solchen Zustande nahegekommen sind, muß man sich fragen. Nun zeigt der Versuch zwar, daß die bei der R-Form zu findende Erbllichkeit wirklich eine sehr beschränkte, einzig bei kurzdauernder Zuchtfolge auftretende ist, die sich nicht mehr zeigt, sobald eine rein abgeimpfte Zucht zu altern

beginnt. Der bei dem Altern eintretende Reiz, der erst einen hohen Grad erreichen muß, um die Stammform zur Veränderung zu R anzuregen, genügt schon in geringster Stärke, um ein Zurückschlagen von R zu G herbeizuführen. Es ist aber doch in einem Versuche bei 41,5° zu zeigen gewesen, daß sich R durch Wochen auch in alter Bouillonkultur zu halten vermag, daß somit dieses Kennzeichen nicht durchgreifend ist. Der gleiche Versuch hat sich nicht wiederholen lassen; er tritt bei unserer gegenwärtig noch so großen Unbekanntschaft mit den Versuchsbedingungen als einzelner Zufall auf; sollte es aber gelingen, einen Cholerastamm zu finden, dessen R-Variante sich noch mehr erblich verfestigen läßt, dann muß man die Möglichkeit zugeben, daß ein und derselbe *Vibrio* in verschiedenen Erscheinungsformen auftreten kann und daß die Agglutination, welche allein noch erlaubt, ohne die langwierigen Erbversuche beide zu vereinen, für die Diagnose das wichtigste Hilfsmittel darstellt.

Noch ein weiterer Punkt ist aus den mitgeteilten Versuchen hervorzuheben, das sehr reichliche Auftreten von Zwischenformen. In der Tat ist bei genügendem Vergleichsmaterial die äußerststehende Form *Annulatus* und *Circumvallatus* durch alle möglichen Uebergänge der Kolonieforn mit der glatten Ausgangsform verbunden, und oft genug war in der Umwandlung einer Form in die andere das Zwischentreten von Uebergängen unmittelbar zu beobachten. Es ist daraus zu schließen, daß das plötzliche Auftreten von R in Kulturen von G doch kein unvermitteltes ist, daß nur unsere ungenügenden Methoden vielfach das Auffinden der Zwischenstufen nicht gestatten. Toeniessen hat für die Fluktuantengrade des B. Friedländer auf dieses Verhalten nachdrücklich hingewiesen; Aehnliches fand Verf. für die kapsellos wachsende Milzbrandspielart.

Der Mutationsforschung ist ein eigentümliches Schicksal beschieden gewesen. So wenig auch zu bezweifeln ist, daß es echte Mutationen gibt, die ersten dafür angeführten Beispiele haben sich nicht halten können. So wie es immer wahrscheinlicher wird, daß die *Oenothera*-Mutanten von de Vries nur auf Spaltungserscheinungen sehr verwickelt zusammengesetzter Bastarde beruhen, so läßt sich bei einem ausgeprägten Beispiele von Bakterienmutation zeigen, daß die Mutanten lediglich Entfaltungen der in der Natur der Art: *Cholera*vibrio begründeten Veränderlichkeitsbreite sind. Diese genügend festzustellen, dazu fordern die wichtigen praktischen Folgerungen auf, die sofort aus ihrer bisherigen Verkenennung entstehen müssen.

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zu Eugen Fraenkels Arbeit: „Ueber malignes Oedem“

in: Beiträge z. Klinik d. Infektionskrankh. und z. Immunitätsforschung.
1914. p. 129—152. Taf. XIII—XV. Würzburg (Curt Kabitzsch) 1914.

Von Prof. Dr. **Gustav Pommer**, Innsbruck.

E. Fraenkel verfolgt in dieser Mitteilung im wesentlichen die Absicht, die Annahme einer Immunität des Menschen gegen das maligne Oedem zu widerlegen. Er bemüht sich, darzutun, daß es sich in 2 Fällen seiner Beobachtung, in denen Soldaten nach Schußverletzungen klinisch (p. 132, Anmerk.), bzw. bei der Obduktion (p. 133, 134) die Erscheinungen von Gasbrand darboten, um echtes malignes Oedem, verursacht durch den Kochschen *Bac. oedematis maligni*, nicht um Gasbrand, verursacht durch den Fraenkelschen Gasbacillus (*Bac. phleg. emph.*), gehandelt habe, und daß in diesen Fällen auch nicht eine Infektion mit jener Anaërobenart vorlag, die Emanuel v. Hibler als den Ghon-Sachs'schen Bacillus von dem Bacillus des malignen Oedems (Koch) zu unterscheiden gelehrt hat.

E. Fraenkels Polemik gegen diese Differentialdiagnose E. v. Hiblers und überhaupt die Beweisführung, die er für seine Anschauung versucht, geben in mehrfacher Beziehung zu ernststen Bedenken Anlaß, deren wichtigste wenigstens in folgendem ausgesprochen werden sollen.

Es darf nicht verabsäumt werden, nachzuweisen, daß E. Fraenkel bei seiner uns hier beschäftigenden Untersuchung manche der wichtigsten und einschneidendsten Unterscheidungsmerkmale, auf denen die gemeinte Differentialdiagnose E. v. Hiblers beruht, unverfolgt und auch in belangreicher Hinsicht unbeachtet ließ.

Dieses Schicksal hatten, wie zunächst gezeigt werden soll, die meisten der biologischen Eigentümlichkeiten, auf Grund deren sich in E. v. Hiblers großem, vorbildlich gründlichem Anaërobenwerk¹⁾ die von ihm untersuchten 15 Anaërobenarten und darunter auch im besonderen, unter Bildung differentialdiagnostischer Gruppen, die genannten 2 Arten voneinander getrennt und unterschieden finden.

Vor allem ist in dieser Beziehung hervorzuheben, daß E. Fraenkel bei seiner Untersuchung weder die von E. v. Hibler nachgewiesene, ausschlaggebende Verschiedenheit dieser beiden Anaërobenarten hinsichtlich ihrer Befähigung zur Alkali- bzw. Säureentwicklung in ihren Kulturen — im besonderen bei Züchtung in Hirnbreiehrstoff — noch auch ihre von ihm erwiesene Verschiedenheit betreffs der Widerstands-

1) v. Hibler, E., Untersuchungen über die pathogenen Anaëroben, über die anatomischen und histologischen Veränderungen bei den durch sie bedingten Infektionskrankheiten des Menschen sowie der Tiere und über einige nichtpathogene Anaërobenarten. (Studien a. d. Patholog.-anatom. Institut. d. k. k. Universität Innsbruck.) 438 pp. m. 16 Crayons u. 1 Farbendrucktaf. Jena (Gust. Fischer) 1908.

Eine tabellarische Zusammenstellung der differentialdiagnostischen Merkmale der von E. v. Hibler untersuchten 15 Arten erschien nachträglich in Kommission bei G. Fischer, Jena 1909, als Sonderabdruck aus den Berichten des Naturwissenschaftl.-med. Vereins zu Innsbruck. Jahrg. 32. 1908/09 unter dem Titel: „Zur Kenntnis der anaëroben Spaltpilze und deren Differentialdiagnose nebst einem Bestimmungsschlüssel in 2 Tabellen“.

fähigkeit der Sporen der beiden Arten gegenüber Erhitzung auf die Innsbrucker Siedetemperatur (von 97,5—98° C) zur Differentialdiagnose heranzieht.

Wie E. v. Hibler in seinem Anaërobenwerk p. 92 nachweist, sah er bei 1—5 Tage dauernder Züchtung des Ghon-Sachsschen Bacillus in Hirnbrei eine derartige Säuerung desselben auftreten, daß zur Neutralisierung von 1 ccm der Kulturflüssigkeit 2,4—7,6 ccm einer $\frac{1}{100}$ -Normallösung von Kalilauge erforderlich waren.

Bei 5—21 Tage dauernder Züchtung des Bacillus des malignen Oedems (Koch) in Hirnbrei kam es hingegen zu einer derartigen Alkalisierung des Nährbodens, daß E. v. Hibler zur Neutralisierung von 1 ccm der Kulturflüssigkeit 4,3—7,75 ccm einer $\frac{1}{100}$ -Normallösung von Salzsäure erforderlich fand.

Mit diesen Reaktionsabänderungen im Hirnbreinährboden stehen in Zusammenhang die darin auftretenden Unterschiede seiner Färbung. E. v. Hibler legt in seinem Anaërobenwerk p. 89—97 dar, daß der Hirnbreinährboden bei Züchtung der alkalisierenden Bacillen des malignen Oedems (Koch) (wie auch bei Züchtung der 5 anderen Bacillenarten der II. Anaërobengruppe E. v. Hiblers) eine Schwärzung, infolge Entwicklung von Schwefeleisen, erfährt, während der Hirnbrei bei Züchtung der ihn säuernden Ghon-Sachsschen Bacillen (ebenso wie bei Züchtung der 8 anderen Bacillenarten der I. Anaërobengruppe E. v. Hiblers) seine ursprüngliche, grauweiße Färbung beibehält.

In diesen gegensätzlichen Verschiedenheiten sind so einschneidende differentialdiagnostische Merkmale gegeben, daß die beiden in Betracht gezogenen Bacillenarten keineswegs — wie E. Fraenkel als äußerste Möglichkeit ins Auge faßt (p. 149) — für „sehr nahestehende Anaërobier“ gehalten werden können, denn sie gehören vielmehr in 2 in biologischer Beziehung voneinander grundverschiedene Anaërobengruppen.

Es ist hier nicht der nötige Raum geboten, um auf die Umstände näher einzugehen, die E. v. Hibler als Bedingungen für die besagten und für andere einschlägige Veränderungen ermittelt hat, die der Hirnbreinährboden und sonstige hämoglobinhaltige Nährböden unter in Vergleich kommenden Verhältnissen erfahren. Jedenfalls muß aber festgestellt werden, daß E. Fraenkel ganz mit Unrecht annimmt (p. 138, 139), es handle sich bei dem Hirnbreinährstoff, den E. v. Hibler als wichtiges differentialdiagnostisches Mittel in die bakteriologische Methodik eingeführt hat, nur um einen „die Bildung von Schwefelwasserstoff anzeigenden“ Nährboden; und es muß auch ausgesprochen werden, daß E. Fraenkel von der Anwendung dieses Verfahrens ganz mit Unrecht Abstand nahm, indem er sich von der Anwesenheit von Schwefelwasserstoff in den Kulturen „in sehr viel einfacherer Weise durch Einhängen von Bleipapier“ zu überzeugen trachtete.

E. v. Hibler hat in seinem Anaërobenwerk p. 89 und 90 und bereits 9 Jahre vorher in einer vorläufigen Mitteilung dargelegt, daß sich die Bildung von Schwefelwasserstoff mittels Bleiacetats auch bei Kulturen der den Hirnbreinährboden nicht schwärzenden Anaërobenarten seiner I. Gruppe, zu der der Ghon-Sachssche Bacillus gehört, nachweisen läßt, und man kann daher diesen auf solche Art bzw. durch Einhängen von Bleipapier nicht von den Anaërobenarten der II. Gruppe

und damit von dem Bacillus des malignen Oedems (Koch) abtrennen¹⁾.

Nicht in der Bildung von Schwefelwasserstoff, sondern in den Reaktionsabänderungen, die der Hirnbreinnährstoff unter der Einwirkung der darin gezüchteten Anaëroben erfährt, liegt der Kernpunkt des von E. v. Hibler empfohlenen Verfahrens.

In dem Maße, als die anfänglich saure Reaktion des Hirnbreies ins Basische umschlägt, kommt es zur Bildung von Schwefeleisen, und diese erscheint, nach E. v. Hiblers Untersuchungen, an den Status nascendi der Schwefelwasserstoffentwicklung und zugleich an die unter der Wachstumseinwirkung der betreffenden Anaëroben erfolgende Aufhebung der sauren Reaktion des Hirnbreies gebunden.

Wie schon erwähnt wurde, blieb in E. Fraenkels Untersuchungen auch das so wichtige Unterscheidungsmerkmal unverwertet, das E. v. Hiblers Studien in der verschiedenen Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen die Siedehitze aufdeckten.

E. Fraenkel ermittelte nur, daß die Sporen der Anaërobenart seiner Mitteilung (p. 139) „eine $\frac{3}{4}$ -stündige Erhitzung der Agarkulturen auf 90° C“ vertragen.

E. v. Hibler hat nachgewiesen (s. sein Anaërobenwerk, Tab. auf p. 221), daß die Sporen der Bacillen des malignen Oedems (und zwar in verschiedenen 2—150 Tage alten Hirnbrei-Transsudat- und Blutserum-Kulturen, bei 8 unter 12 Versuchen)

nach mehr als einer Stunde, ja nach 1½ Stunden (und sogar länger) dauernder Erhitzung in strömendem Wasserdampf (von 97,5—98° C) ihre Entwicklungsfähigkeit noch behielten.

(Nur bei 3 Erhitzungsversuchen, die E. v. Hibler mit Sporen des malignen Odeembacillus ausführte, ergab sich als Grenze der Entwicklungsfähigkeit eine nur 40 bzw. nur 30 Minuten dauernde Einwirkung der Siedetemperatur.)

E. Fraenkel hätte den Nachweis einer derartigen Hitzebeständigkeit der Sporen erbringen müssen, um bei der von ihm untersuchten Art an den Bacillus des malignen Oedems (Koch) — und zwar im besonderen gegenüber dem Ghon-Sachsschen Bacillus — denken zu können.

Gerade für diesen letzteren ermittelte E. v. Hibler eine verhältnismäßig sehr geringe Hitzewiderstandsfähigkeit der Sporen.

Nach seinen Untersuchungen widerstanden die Sporen der Ghon-Sachsschen Bacillenart wohl durchweg einer 5 Minuten, aber nur 6mal unter 16 Versuchen einer 6 Minuten und niemals einer 7 Minuten dauernden Siedehitzeeinwirkung (s. Tab. im Anaërobenwerk E. v. Hiblers p. 218).

Wie E. v. Hibler in seinem Anaërobenwerk (p. 225) und auch schon in seinem Vortrag auf der Meraner Tagung der Deutschen Patho-

1) Vgl. hierüber E. v. Hiblers vorläufige Mitteilung: Beiträge zur Kenntnis der durch anaërobe Spaltpilze erzeugten Infektionserkrankungen der Tiere und des Menschen, sowie zur Begründung einer genauen bakteriologischen und pathologisch-anatomischen Differentialdiagnose dieser Prozesse. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1899. p. 513, 593, 631.)

Auf p. 606 berichtet E. v. Hibler, daß Schwefelwasserstoff auf dem Gehirnnährstoff „stets mehr oder minder reichlich von allen untersuchten Anaëroben gebildet“ wird, also sowohl von den alkalisierenden als auch von den säuernden Anaëroben, wie er durch die Bleiacetatreaktion unter Verwendung der von ihm selbst zu diesem Zwecke angefertigten und (p. 528 und 527 Fig. 7 und 8) beschriebenen Kulturgefäße nachwies. Hier bereits verwertet E. v. Hibler eingehend die Alkalisierung des an sich sauren Gehirnnährstoffes und die darin bei Schwefelwasserstoffbildung eintretende Schwärzung als „artunterscheidendes Merkmal“ gewisser Anaëroben (p. 606).

logischen Gesellschaft hervorhob, ermöglichen diese Ergebnisse, die Bacillenart des malignen Oedems (Koch) von der Ghon-Sachsschen mit Sicherheit zu unterscheiden und abzusondern¹⁾.

E. Fraenkels Untersuchung beschränkt sich der Hauptsache nach auf die Züchtung in traubenzuckerhaltigen Agar- und Gelatinenährböden — in denen die betreffende Anaërobenart am besten bei Körpertemperatur unter starker Gasentwicklung und, was die Gelatine anlangt, unter Verflüssigung wächst — ferner auf die Züchtung in erstarrtem Löffler Serum — in welchem der Bacillus unter Gasbildung und „geringgradiger Verflüssigung des Nährbodens“ (p. 139) wächst — und auf die Züchtung in Milch, die hierbei nach E. Fraenkels Mitteilung unter Gasentwicklung zur Gerinnung gelangt, worauf der Kaseinzylinder „im Laufe der Zeit an Masse“ abnimmt, „ohne daß“ die Peptonisierung, die darin E. Fraenkel gegeben ersatet, auch nach langer Zeit „zu einer vollkommenen Verflüssigung“ führt (p. 138).

Weder durch die Angaben über die geringgradige Verflüssigung des erstarrten Serums noch durch die von E. Fraenkel angenommene unvollkommene Peptonisierung des Kaseins erscheint bei näherer Erwägung seine Annahme, daß es sich bei seiner Anaërobenart um den Bacillus des malignen Oedems (Koch) handle, völlig gerechtfertigt; in beiden Beziehungen wird durch seine Angaben vielmehr die Vermutung erregt, daß bei dem von ihm untersuchten Bacillus der Ghon-Sachssche vorliegen dürfte.

Als einen der wesentlichen Unterschiede zwischen dem letzteren und dem des malignen Oedems (Koch) kennen wir durch E. v. Hibler auch den, daß der Ghon-Sachssche Bacillus (gleichwie die anderen Arten der I. Gruppe E. v. Hiblers) das erstarrte Serum nicht peptonisiert, während es durch die Anaërobenart des malignen Oedems (Koch) (gleichwie bei den anderen Arten der II. Gruppe E. v. Hiblers) zur Verflüssigung des erstarrten Serums durch Peptonisierung kommt (s. E. v. Hiblers Anaërobenwerk p. 119 ff.).

E. v. Hibler hat in seinem Anaërobenwerk p. 99 auch nachgewiesen, daß durch den Bacillus des malignen Oedems (gleichwie durch die 5 anderen Arten der II. Anaërobengruppe) in Milchkulturen das Kasein unter erhaltenbleibender oder wieder auftretender alkalischer Reaktion mehr oder weniger vollständig peptonisiert wird, nachdem es vorher zwar häufig, aber nicht immer zur Gerinnung gelangt ist.

Das Verhalten, wie es E. Fraenkel in seinen Milchkulturen schildert, erinnert demnach viel mehr an das der Milchkulturen bei Einimpfung des Ghon-Sachsschen Bacillus, durch den es ja, wie E. v. Hibler bei der wiederholten Prüfung von 6 Stämmen, und zwar auch des Originalstammes dieser Anaërobenart (vgl. sein Anaërobenwerk p. 114, 115) nachwies, nicht zur Peptonisierung des Kaseins kommt.

Zugunsten der ausgesprochenen Vermutung wäre dabei in Rücksicht zu ziehen, daß bei Züchtung des Ghon-Sachsschen Bacillus der (nach 48–96 Stunden oder später, unter sehr mäßiger Gasbildung und langsamer, unvollständiger Vergärung des Milchzuckers entstehende) Kaseinkuchen später von Gasen durchlöchert wird und dann schrumpfen kann, wodurch geringgradige Peptonisierung und Auflösung vorgetäuscht werden kann. (Vgl. hierüber E. v. Hiblers Anaërobenwerk p. 98, 99, wo übrigens ein ähnliches Verhalten in dieser Beziehung auch für 2 andere Anaërobenarten seiner I. Gruppe, nämlich für den Rauschbrand- und für den Novyschen Bacillus nachgewiesen ist.)

Mit der Vermutung, daß es sich bei der von E. Fraenkel untersuchten Anaërobenart um den Ghon-Sachsschen Bacillus handelt, erscheint auch durchaus nicht unvereinbar, daß nach E. Fraenkels Mitteilung (p. 136, 140) diese Stäbchen bei dem Gram-Verfahren durch absoluten Alkohol zur Entfärbung gelangten.

Wie E. v. Hibler feststellte (s. sein Anaërobenwerk p. 13) widerstehen tatsächlich, im Vergleich zu den übrigen Arten, bei dem Gram-Verfahren der Alkoholeinwirkung „die Ghon-Sachsschen Bacillen und wohl auch die Bacillen des malignen Oedems die kürzeste Zeit“.

Für die Entscheidung, ob gegebenenfalls die Ghon-Sachssche Bacillenart oder der Bacillus des malignen Oedems Koch vorliegt, läßt sich also das besagte Verhalten

1) v. Hibler, E., Ueber die Differentialdiagnose der pathogenen Anaëroben. (Verhandl. d. Deutsch. Patholog. Gesellsch. 9. Tagung. Meran 1905. p. 118–130. Taf. III u. IV.)

Auf p. 127 finden sich hier die besonders entscheidenden differentialdiagnostischen Merkmale der beiden Arten hervorgehoben, außerdem hat E. v. Hibler in den Figuren 1–6 seiner beiden Tafeln den großen Unterschied veranschaulicht, der zwischen den in Hirnbrei, in Milch und in Blutserum gezüchteten Kulturen des Bacillus des malignen Oedems und des Ghon-Sachsschen Bacillus besteht.

gegenüber der Gram-Methode nicht verwerten; es könnte nur für die Unterscheidung gegenüber anderen Anaëroben, so im besonderen gegenüber dem sehr grampositiv sich verhaltenden hauptsächlich Gasbranderreger, nämlich E. Fraenkels *Bacillus phleg. emph.*, von Bedeutung sein.

Auch die Untersuchungsergebnisse, die E. Fraenkel von dem Gebiete des Tierversuches und der anatomischen Befunde mitteilt und zugunsten seiner Diagnose verwertet, nötigen bezüglich ihrer Stichhaltigkeit in mancher Richtung zum Widerspruch.

E. Fraenkel kann sich allerdings zwecks Ausschließung einer durch seinen Gasbacillus (*Bac. phleg. emph.*) verursachten Gasbrandform (p. 135) mit Recht darauf berufen, daß in den Fällen seiner Mitteilung bei Einimpfung von Reinkulturen in Kaninchen diese Tiere, im Gegensatz zu ihrem refraktären Verhalten bei Infektionsversuchen mit dem Gasbacillus, einer mit Oedembildung einhergehenden, meist rasch tödenden Erkrankung verfielen.

Ganz mit Unrecht glaubt aber E. Fraenkel, diesen Erfolg seiner Kaninchenversuche auch gegenüber der durch den Ghon-Sachsschen *Bacillus* bedingten Infektionserkrankung zur Differentialdiagnose heranziehen zu können, indem er irrigerweise behauptet, daß „nach Infektion mit dem Ghon-Sachsschen *Bacillus*, selbst nach Einverleibung größerer Reinkulturmengen, stets nur eine lokal bleibende, keine Neigung zur Progredienz zeigende Schwellung der Haut und Subcutis“ eintrete, „der die Tiere niemals erlagen“ (p. 147).

E. v. Hibler verzeichnet in seinem Anaërobenwerk (s. die Tabelle p. 272) unter seinen, im ganzen 22, tödlich verlaufenen Infektionsversuchen mit der Ghon-Sachsschen *Bacillenart* nicht weniger als sechs, die Kaninchen betrafen.

Bei den übrigen dieser tödlich verlaufenen Infektionsversuche E. v. Hibler handelt es sich um Meerschweinchen und um weiße und graue Ratten.

Nur bei 6 mit dem Ghon-Sachsschen *Bacillus* von E. v. Hibler vorgenommenen Tierversuchen beschränkte sich (s. sein Anaërobenwerk p. 272) die Wirkung auf Entstehung einer verschiedengradigen örtlichen Anschwellung, und zwar 3mal bei Kaninchen und bei ebensoviel Meerschweinchen.

Der tödliche Ausgang der von E. Fraenkel aufgeführten Kaninchenversuche durfte demnach nicht als Ausschließungsgrund gegenüber dem Ghon-Sachsschen *Bacillus* und nicht zugunsten des Kochschen *Bacillus* des malignen Oedems in Anspruch genommen werden.

Was den letzteren anbelangt, kann auch die Angabe in E. Fraenkels Mitteilung (p. 147) nicht unwidersprochen bleiben, daß gegenüber dem Kochschen *Bacillus* des malignen Oedems „das Kaninchen genau so prompt mit einem schweren, sich rasch ausdehnenden, tödlich verlaufenden Oedem wie das Meerschweinchen“ reagiert.

Von den 7 Kaninchen, die E. v. Hibler mit dem *Bacillus* des malignen Oedems (Koch) impfte, verendeten nur 5 innerhalb von 15–72 Stunden, bei zweien aber kam es nur zu örtlichen Veränderungen, während hingegen alle 24 Meerschweinchen, die E. v. Hibler (innerhalb der Gesamtzahl seiner 53 Infektionsversuche mit dem *Bac. oedemat. malig. Koch*) mit dieser *Bacillenart* impfte, der Infektion erlagen (s. E. v. Hiblers Anaërobenwerk p. 286–288).

Auch manches in E. Fraenkels Sektionsbefunden, so: der auffallende Gasgehalt, das „Knistern“ der Organe, das „schaumige“ Blut, die „knisternde“ Oedemflüssigkeit im Obduktionsfalle selbst und bei den Tierversuchen und der Mangel an besonders und ausdrücklich angeführten Hämorrhagieen läßt sich zugunsten der Vermutung heranziehen, daß es sich in seinen Fällen um die durch den Ghon-Sachsschen *Bacillus* verursachte Form von Gasbrand und, entgegen seiner Ansicht, nicht um malignes Oedem handelt; gegen diese Vermutung spricht auch nicht das fleischwasserartige, sanguinolente Verhalten der Oedemflüssigkeit, das E. Fraenkel besonders hervorhebt (vgl. p. 133, 134, 147).

Die von E. v. Hibler mit dem *Bacillus* des malignen Oedems ausgeführten Tierversuche (vgl. sein Anaërobenwerk p. 351, 356) ergaben in der Regel nur geringe

oder sogar keine auffallende Gasbildung, wohl aber neben der serösen Infiltration hämorrhagische Veränderungen.

Als Eigentümlichkeit des Ghon-Sachsschen Bacillus — und auch anderer Arten der I. Anaërobennguppe E. v. Hiblers — stellte er aber in seinen Untersuchungen fest: sehr frühzeitige und ausgeprägte Gasbildung (die aber immerhin in manchen Fällen auch von E. v. Hibler (p. 356) nicht auffallend gefunden wurde, wofür er den wechselnden Gehalt der Gewebe an Kohlehydraten zur Erklärung heranzieht (p. 358)), ferner das Fehlen oder nur geringe Vorkommen von Blutungen (wenn nicht viel und toxinreiches altes Kulturmateriale zur Infektion verwendet wird) (p. 355); was aber das Verhalten der Oedemflüssigkeit anlangt, so ist sie auch in manchen der Sektionsbefunde, die E. v. Hibler (p. 328—332) von seinen Infektionsversuchen mit dem Ghon-Sachsschen Bacillus mitteilt, als „blutigrot“ oder „rötlich gefärbt“ u. dgl. geschildert.

Mit der hier vertretenen Vermutung ist endlich auch vereinbar, daß in den histologischen Befunden E. Fraenkels ödematöse Durchsetzung neben Quellung und scholliger Verklumpung der Muskulatur überwiegt und im Vordergrunde steht (p. 145 und 146).

Der Nachweis von auf Eiweißpeptonisierung beruhender Höhlenlückenbildung innerhalb der Muskelfasern, auf den E. v. Hibler in seinen mikroskopischen Befunden des malignen Oedems (s. p. 383, 384) besonderes Gewicht legt, ist in E. Fraenkels Mitteilung nicht erbracht, wohl aber lassen sich seine Befunde in mancher Beziehung mit denen in Parallele stellen, die E. v. Hibler bei Infektionsversuchen mit dem Ghon-Sachsschen Bacillus (und den anderen Arten seiner I. Anaërobennguppe) aufnahm (vgl. p. 385 und p. 434—436 bezüglich der Beschreibungen seiner Fig. 11 auf Taf. XIII, Fig. 7 auf Taf. XIV, Fig. 8 und 9 auf Taf. XV).

Die Anzeichen, auf die sich in E. Fraenkels Mitteilung seine Diagnose stützt, erweisen sich nach alledem ebensowenig als zutreffend, wie die Einwände, die darin E. Fraenkel gegen die von E. v. Hibler gegründete Differentialdiagnose zwischen dem Ghon-Sachsschen Bacillus und dem Bacillus des malignen Oedems Koch erhebt.

Als auffällige Tatsache muß schließlich noch festgestellt werden, daß E. Fraenkel bezüglich keines Punktes seiner Polemik gegen die Differentialdiagnose E. v. Hiblers die verschiedenen von diesem selbst über den Gegenstand veröffentlichten Untersuchungen in Betracht zieht oder auch nur auf sie hinweist. Er führt seine Polemik ausschließlich gegen das Sammelreferat über malignes Oedem, das F. v. Werdt nach E. v. Hiblers Tode für die 2. Auflage des Kolle-Wassermannschen Handbuches verfaßte; daß dieses Sammelreferat, obwohl es darauf Anspruch erheben darf, sorgfältig genannt zu werden, auch selbst bei ungleich genauerer Berücksichtigung, als bei der ihm von E. Fraenkel gewidmeten¹⁾, unmöglich das Studium, geschweige denn die Nachverfolgung der grundlegenden Untersuchungen E. v. Hiblers entbehrlich machen konnte, wird keinen wissenschaftlich Arbeitenden wundernehmen.

1) Als Beispiel sei hier nur angeführt: E. Fraenkel hebt (p. 147) im Vergleiche zu den Lehrbüchern v. Baumgartens und von Kolle-Hetsch hervor, daß in der v. Werdtschen Bearbeitung des malignen Oedems darüber Angaben fehlen, ob Kaninchen als Versuchstiere neben Meerschweinchen „zur experimentellen Erzeugung von malignem Oedem“ geeignet seien. — Tatsächlich berichtet F. v. Werdt auf p. 840 seines Sammelreferates über diesen Punkt seines Themas wörtlich: „Es gelang die experimentelle Erzeugung von malignem Oedem bei den meisten kleinen Nagetieren. Cornevin führt das Meerschweinchen in erster Linie als sehr empfänglich an. Ebenso bezeichnet Koch dasselbe als höchst empfänglich. Auch v. Hiblers Untersuchungen wurden zum Teil mit Meerschweinchen angestellt. Letzterer fand außerdem Kaninchen und weiße und graue Ratten geeignet. Koch hat bereits im Jahre 1881 Mäuse mit Bacillen des malignen Oedems erfolgreich geimpft. Auch auf Hühner und Tauben ließ sich der Bacillus mit Erfolg übertragen. . . .“

*Nachdruck verboten.***Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren.****XIX. Mitteilung¹⁾.****(Die Morphologie der Coccidiose. — Das übertragbare Hühnersarkom. — Das Riesenzellengranulom.)****Von Dr. E. Saul, Berlin.****Mit 13 Figuren.**

Volkman²⁾ betrachtete das Carcinom ebenso, wie die Tuberkulose, den Typhus, die Cholera, — als Schmutzkrankheit. Insbesondere machte er für den Gesichtskrebs ungenügende Reinlichkeit und mangelhafte Pflege der Haut verantwortlich. Volkman gelangte zu dieser Auffassung durch die Tatsache, daß der Gesichtskrebs sehr selten bei den höheren Ständen der Bevölkerung beobachtet wird, die erfahrungsgemäß mehr für körperliche Reinlichkeit sorgen, als die niederen Stände.

Die Beobachtungen Volkmanns konnte M. Runge³⁾ bezüglich des Uteruscarcinoms bestätigen. Er zeigte, daß die Häufigkeit desselben in der Göttinger Universitätsfrauenklinik, die hauptsächlich von Patienten niederer Stände frequentiert wird, 6,47 Proz. des Krankenbestandes betrug, während in Runge's Privatlinik die Prozentziffer des Uteruscarcinoms nur 1,27 Proz. erreichte.

Die klinischen Beobachtungen von Volkman und Runge hat Borell⁴⁾ experimentell erhärtet. Er konstatierte, daß das Carcinom der Maus in ungereinigten Holzkäfigen bei weitem häufiger beobachtet wird, als in Glaskäfigen, die einer regelmäßigen Säuberung unterzogen werden.

Die Kasuistik lehrt, daß es Epitheliome gibt, für die exogene Ursachen nicht in Betracht kommen; z. B. wird nach den Darlegungen von Marchand⁵⁾ das Chorionepitheliom des weiblichen Organismus durch pathologische Stoffwechselprodukte des befruchteten Ovulums hervorgerufen, wie bei früherer Gelegenheit ausführlich erörtert wurde (vgl. XVII. Mitteilung. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913. p. 59). Was nun die Chorionepitheliome des männlichen Organismus, bzw. die Dermoides betrifft, so müssen wir uns erinnern, daß der Mensch in den frühen Stadien des embryonalen Lebens hermaphroditisch angelegt ist. In den Fällen, wo sich ein Chorionepitheliom des Mannes, bzw. ein Dermoid entwickelt, handelt es sich also um die parthenogenetische Befruchtung von Eiern, die seit den ersten Phasen des embryonalen Lebens ihre Entwicklungsfähigkeit im Organismus bewahrt haben. Und zwar kann nach den Untersuchungen von Bataillon⁶⁾ und J. Loeb⁷⁾ die Entwicklungserregung durch ein Trauma oder durch Stoffwechselprodukte des Organismus erfolgen. Insbesondere konnte J. Loeb nachweisen,

1) Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1914. p. 205 usw.

2) Volkman's Sammlung klin. Vorträge. Bd. 3. Chirurgie. p. 2235 ff.

3) Therapie d. Gegenwart. 1905. H. 6.

4) Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 22. 1908. p. 515; ebenda T. 24. 1910. p. 780. — Internationale Krebskonferenz in Paris. 1910.

5) Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 39 u. 40.

6) Arch. f. Entwicklungsmechanik. Bd. 18. 1904.

7) Americ. Journ. of Physiol. Vol. 6 1900. p. 423. — Pflügers Arch. Bd. 118. 1907.

daß nicht nur in den Spermatozoen, sondern auch in anderen Körperzellen Stoffe enthalten sind, die auf Eier entwicklungserregend wirken.

Den Tumoren, die durch Stoffwechselprodukte des Organismus hervorgerufen werden, sind die Xanthome und Xanthosarkome anzureihen, da sie nach den Untersuchungen von S. Weil¹⁾ aus dem Cholestearinstoffwechsel resultieren; sie beruhen daher auf einer Konstitutionsanomalie. Und wie für alle Konstitutionsanomalieen, so beansprucht auch für die Xanthome und Xanthosarkome die Heredität hervorragende Bedeutung.

Wenn wir erwägen, daß im Gefolge des primären Röntgencarcinoms sich metastatische Carcinome entwickeln, obgleich an den Orten der Metastase die Röntgenstrahlen nicht eingewirkt haben, so müssen wir folgern, daß die carcinomerregende Wirkung derselben sich von den zuerst getroffenen Zellen auf die Zelldeszendenten vererbt. Eine derartige cellulare Vererbung erworbener pathologischer Eigenschaften müssen wir auch für die Metastasen von Carcinomen voraussetzen, die durch Helminthen oder Milben hervorgerufen wurden, da die Metastasen frei von diesen Parasiten sind. — Das hervorragendste Beispiel einer Zellenproliferation, die durch einen Reiz hervorgerufen wird, dessen Wirkung sich von der zuerst getroffenen Zelle auf ihre Deszendenten vererbt, finden wir bei der Befruchtung. Nach der Meinung derjenigen Autoren, welche die schrankenlose Zellenproliferation des Carcinoms durch die schrankenlose Vermehrung eines hypothetischen, intracellulären Parasiten erklären wollen, müßte auch das Spermatozoon sich in dem Maße vervielfältigen, wie die Zellenproliferation fortschreitet, die im Gefolge der Befruchtung auftritt.

Peyton-Rous²⁾ hat als Ursache des übertragbaren Hühnersarkoms ein Agens nachgewiesen, das durch das Berkefeld-Filter hindurchdringt, er rechnet dasselbe daher zu den ultramikroskopischen Krankheits-erregern. Die Aetiologie des übertragbaren Hühnersarkoms ist also völlig verschieden von der Aetiologie derjenigen Sarkome, die durch Produkte der Anilinfarbenindustrie oder durch Stoffwechselprodukte der Bilharzia-Eier in der Submucosa der menschlichen Harnblase hervorgerufen werden. Ob nun für die Aetiologie des übertragbaren Hühnersarkoms ein belebtes oder unbelebtes Agens in Frage kommt, ob es aus Infektion oder Intoxikation resultiert, kann nach dem gegenwärtigen Stande der Forschung nicht mit Sicherheit entschieden werden.

Was die Beziehungen der Coccidien zu den Adenomen betrifft, so gibt Konjetzny (Lubarsch-Ostertag. Bd. 2. 1910. p. 770) folgende Schilderung: „Mikroskopisch wird das Bild der Coccidiose beherrscht von einem auffallenden Wucherungsprozeß der Gallengänge, bestehend in einer teils Sprossen, teils vielverzweigte papilläre Exkreszenzen bildenden Epithelproliferation“ usw. — Ich habe bereits in meiner XVIII. Mitteilung (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1914. p. 207 ff.) mich bemüht, diese Auffassung zu widerlegen. Da indessen Konjetzny seine Behauptung insbesondere auf die von R. Pfeiffer³⁾ publizierten Befunde stützt, so möchte ich auf die letzteren näher eingehen.

1) Ueber die Bedeutung des Cholestearins für die Entstehung der Riesenzellengeschwülste usw. [Aus d. Kgl. chirurg. Universitätsklinik zu Breslau.] (Berlin. klin. Wochenschr. 1915. No. 6.)

2) Journ. of Americ. Assoc. 16. Nov. 1912.

3) Die Coccidien-Krankheit der Kaninchen. Berlin 1892.

Fig. 1. Schnittpräparat einer Kaninchenleber. Fall von Coccidiose. Vergr. 1:500. — Diese Abbildung ist in der Publikation Pfeiffers¹⁾ als Fig. XXI bezeichnet und, wie folgt, erklärt: „Leberknoten. Auf dem dünnen, gefäßführenden, bindegewebigen Stroma sitzen Epithelzellen auf, die fast alle einen oder mehrere Parasiten beherbergen. In den freien Interstitien zwischen den Zotten zahlreiche encystierte Coccidienformen.“ Demgegenüber kann ich hervorheben, daß auch in Fällen, wo keine Coccidiose vorliegt, gelegentlich im periportalcn Bindegewebe der Kaninchen-



Fig. 1. 1:500.

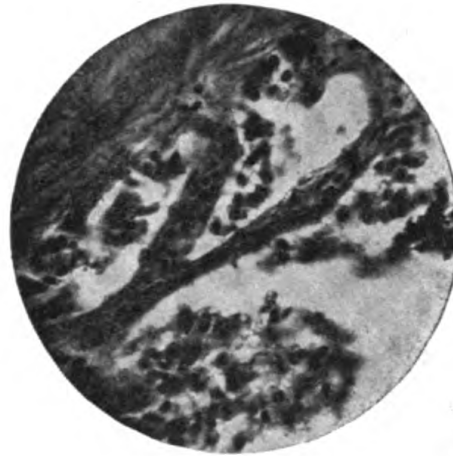


Fig. 2. 1:500.

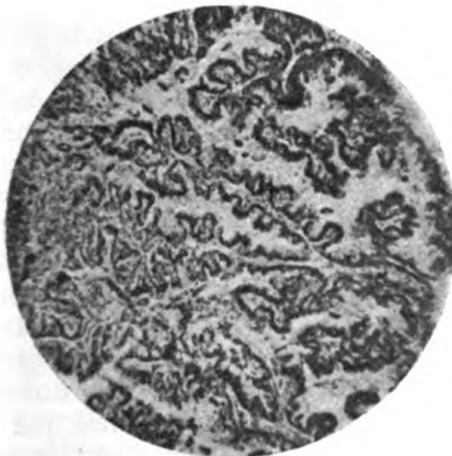


Fig. 3. 1:100.



Fig. 4. 1:20.

leber histologische Befunde erhoben werden, die mit denjenigen Pfeiffers übereinstimmen. Als Beispiel möge Fig. 2 dienen. Es dürfte sich daher bei dem Präparate Pfeiffers um sekundäre Einwanderungen von Coccidien gehandelt haben.

Fig. 3. Schnittpräparat einer Kaninchenleber. Fall von Coccidiose. Vergr. 1:100. In der Publikation Pfeiffers²⁾ ist diese Abbildung als Fig. XX bezeichnet und folgendermaßen erklärt: „Der Inhalt des Coccidienherdes wird dargestellt von vielfach verzweigten, baumförmig sich ausdehnenden, mit Epithel bekleideten Zotten ... Die Zotten be-

1) l. c.

2) l. c.

stehen aus einem bindegewebigen Stroma, auf welchem Zylinderepithelien aufsitzen. Wendet man starke Vergrößerungen an, so sieht man, daß die große Mehrzahl dieser Epithelzellen Parasiten beherbergen.“

Den Einwand, daß es sich auch in diesem Falle um sekundäre Einwanderungen von Coccidien gehandelt haben dürfte, möchte ich wiederum damit begründen, daß sich gelegentlich adenomatöse Gallengangswucherungen in der Kaninchenleber entwickeln, obgleich keine Coccidiose vorliegt. Als Beispiel mögen Fig. 4 und Fig. 5 dienen.

Im Anfang der ätiologischen Aera wurden die Coccidien oft als Epithelien gedeutet. Es ist deshalb die Feststellung von Interesse, daß die Coccidien tatsächlich die Fähigkeit besitzen, sich unter geeigneten Bedingungen, ähnlich wie Epithelien, in regelmäßigen Reihen anzuordnen. Insbesondere entwickeln sie bei der Kultivierung diese Tendenz, wie Fig. 6 lehrt.



Fig. 5. 1:100.



Fig. 6. 1:50.

Fig. 6. Schnittpräparat einer Kaninchenleber, die während eines halben Jahres in Wasser kultiviert wurde (Zimmertemperatur). Fall von Coccidiose. Giemsa-Färbung. Vergr. 1:50. — Die Coccidien erscheinen auf der freien Fläche des periportal Bindegewebes in regelmäßigen Reihen angeordnet, als lange, papilläre Exkreszenzen, die durch schmale Intervalle gegeneinander begrenzt sind. Die Zellen des periportal Bindegewebes sind während der Kultivierung durch Nekrobiose zugrunde gegangen.

Wie ich bei früherer Gelegenheit nachweisen konnte (VIII. Mitteilung. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. p. 81 ff.) beantworten Mäuse die subkutane Implantation des *Cysticercus fasciolaris* mit Ansammlungen von Lymphocyten, die an der Implantationsstelle erscheinen. Aus dem lymphatischen Zellaggregat geht ein Sarkom der Subcutis hervor, wenn das Versuchstier nicht vorzeitig den toxischen Wirkungen des subkutan implantierten Helminthen erliegt. Es entsteht nun die Frage: Wie gestalten sich die analogen Vorgänge bei der Coccidiose?

Fig. 7. Schnittpräparat einer Kaninchenleber. Fall von Coccidiose. Giemsa-Färbung. Vergr. 1:150. — Das Gesichtsfeld zeigt im periportal Bindegewebe der Kaninchenleber ein lymphatisches Zellaggregat,

in der Form eines runden Herdes. Aus der Vergleichung mit ähnlichen Herden der Kaninchenleber ergibt sich der Schluß, daß es sich um einen Coccidienherd in den ersten Stadien der Entwicklung handelt. Die jungen Coccidien können zwischen den lymphatischen Zellenmassen nicht unterschieden werden, weil sie noch nicht encystiert sind.

Fig. 8. Schnittpräparat einer Kaninchenleber. Fall von Coccidiose. Giemsa-Färbung. Vergr. 1:150. Man erkennt zwischen den lymphatischen Zellenmassen die encystierten Coccidien. Im übrigen lehrt

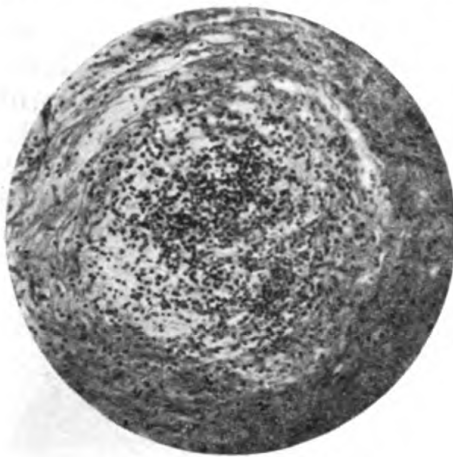


Fig. 7. 1:150.

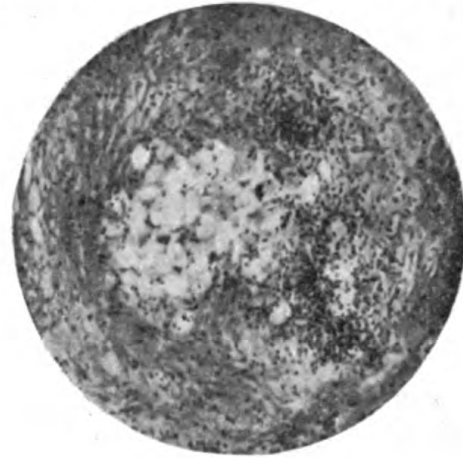


Fig. 8. 1:150.

das Präparat, daß in dem Falle der Coccidiose aus den lymphatischen Zellaggregaten nicht fixe Gewebeelemente hervorgehen, wie bei der experimentellen Erzeugung des Sarkoms, vielmehr werden die angehäuften Lymphocyten durch die Stoffwechselprodukte der Coccidien nachträglich zur Auflösung gebracht.

Fig. 9. Schnittpräparat einer Kaninchenleber. Fall von Coccidiose. Giemsa-Färbung. Vergr. 1:150. — Zarte Züge des periportalen Bindegewebes umgeben die Coccidien, so daß sie in den Maschenräumen eines Netzes liegen. Dadurch entsteht der Eindruck, als bestände eine organoide Neubildung, deren Parenchymzellen durch Coccidien dargestellt werden.

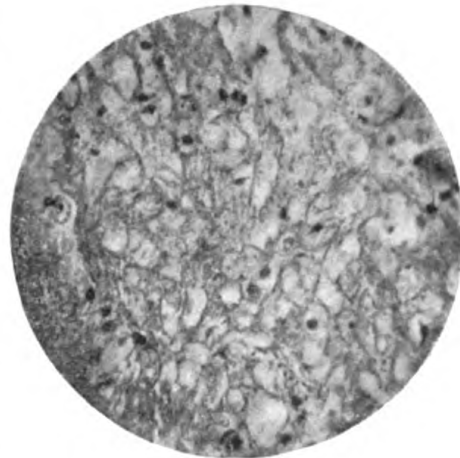


Fig. 9. 1:150.

Ich wende mich nun nochmals zu dem übertragbaren Hühnersarkom. Wie bereits erwähnt wurde, passiert das Agens, das ein Sarkom, bzw. ein Osteochondrosarkom bei Hühnern veranlaßt, das Berkefeld-Filter. Fügt man dem Filtrat sterile Infusorienerde hinzu, so wird nach den Untersuchungen von Peyton-Rous¹⁾ das Wachstum des Sarkoms beschleunigt. Die Uebertragung gelingt bei Hühnern regelmäßig. Nach etwa 14 Tagen wird der experimentell hervorgerufene Tumor palpabel, und

1) l. c.

nach 3—4 Wochen erfolgt der Tod des Versuchstieres unter Erscheinungen der Kachexie. Alte Hühner widerstehen dem Virus länger als junge. — Nach den Darlegungen von Pentimalli¹⁾ kann man das übertragbare Hühnersarkom für einige Wochen in 50-proz. Glyzerin konservieren, ohne daß das Virus seine Wirksamkeit verliert; ebenso ist es resistent gegen Trocknung.

Fig. 10. Schnittpräparat eines übertragbaren Hühnersarkoms. Dasselbe ist dadurch hervorgerufen, daß völlig vertrocknete²⁾ Tumorreste, nach Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung, in den Brustmuskel eines Huhnes injiziert wurden. Giemsa-Färbung. Vergr. 1:100. Das Uebersichtsbild lehrt, daß die Sarkomzellen infiltrierend in die Interstitien der Muskelprimitivbündel eindringen und die letzteren zur Auflösung bringen. Dieser Auflösungsprozeß wird durch Stoffwechselprodukte der Tumorzellen herbeigeführt, wie ich bei früherer Gelegenheit erörtert habe (XVIII. Mitteilung. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1914. p. 208 ff).



Fig. 10. 1:100.



Fig. 11. 1:250.

Fig. 11. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung (1:250). — Man bemerkt, daß das übertragbare Hühnersarkom hauptsächlich aus Spindelzellen zusammengesetzt ist. Der von L. Aschoff erhobene Einwand, daß die letzteren vermöge ihrer langen Fortsätze durch die Poren des Berkefeld-Filters hindurchdringen können, entbehrt jeder Begründung. — Walter³⁾ konstatierte, daß das Berkefeld-Filtrat des übertragbaren Hühnersarkoms noch in 50-facher Verdünnung, selbst bei Verwendung sehr kleiner Mengen, ein Sarkom bei Hühnern hervorruft.

Wie bereits oben erwähnt wurde, sind mechanische Reize bezüglich ihrer Bedeutung für die Geschwulsttätologie nahe verwandt den chemischen Reizen. Es ist deshalb bemerkenswert, daß Podwyssotzki⁴⁾ mit Fremd-

1) Zeitschr. f. Krebsforschung. Bd. 15. 1915. p. 112.

2) Die von Peyton-Rous übersandten Tumorreste stellen ein trockenes Pulver dar. Letzteres wird gewonnen, indem man das Tumorgewebe im luftleeren Raum der wasserentziehenden Wirkung der Schwefelsäure exponiert. Auf diese Weise ist bei dem Uebertragungsversuch die Mitwirkung lebender Tumorzellen völlig ausgeschlossen.

3) Deutsche med. Wochenschr. 1913. No. 18. p. 1858.

4) Zur Frage über die formativen Reize usw. (Beiträge zur pathologischen Anatomie u. zur allgemeinen Pathologie. Bd. 47. 1910. p. 270 ff.)

körpermassen (Kieselgurerde), subkutan wie intraperitoneal, Riesenzellengranulome bei Meerschweinchen hervorgerufen hat. Aus diesem Anlaß ist aufs neue daran zu erinnern, daß Virchow nicht in der Lage war, die Granulome von den Sarkomen morphologisch zu unterscheiden. Auch das infiltrierende Wachstum der Sarkome bietet keinen Unterscheidungsgrund, weil die als Epulis bezeichneten Riesenzellensarkome der menschlichen Mundschleimhaut des infiltrierenden Wachstums ebenso ermangeln, wie die Granulome.

Fig. 12. Schnittpräparat eines Riesenzellengranuloms, das durch subkutane Injektion von Kieselgurerde bei Meerschweinchen hervorgerufen wurde. Giemsa-Färbung. Vergr. 1:50.

Das Uebersichtsbild zeigt, daß das Granulom aus Rundzellen und Riesenzellen zusammengesetzt ist. Letztere liegen hauptsächlich an der Peripherie des Tumors.

Fig. 13. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung (1:250). -- Man erkennt, daß die Riesenzellen des Granuloms durch die große Zahl ihrer

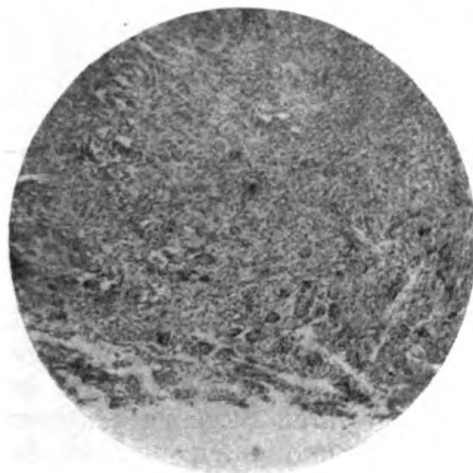


Fig. 12. 1:50.

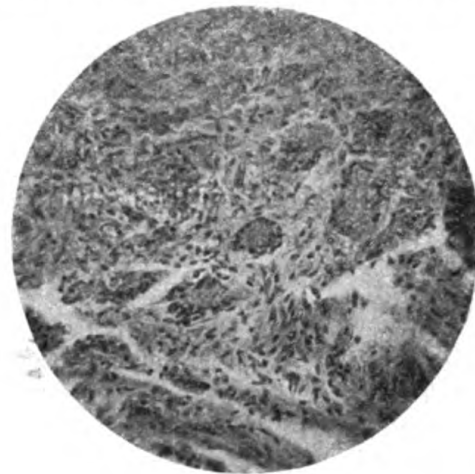


Fig. 13. 1:250.

Kerne ausgezeichnet sind. Zwischen den Gewebselementen des Granuloms: zahlreiche kristallinische Nadeln der Kieselgurerde. Wie Poddwyssotzki¹⁾ konstatierte, liegen die letzteren noch nach 75 Tagen ganz unverändert im Gewebe.

Mein Lehrer C. Schimmelbusch²⁾ hat in der letzten Veröffentlichung, die er der Nachwelt hinterließ, die Beziehungen mechanischer Reize zur Geschwulstetiologie sehr eingehend erörtert und ihre ätiologische Bedeutung für einige Geschwulstkategorien anerkannt, für andere abgelehnt. Nach den jüngsten Feststellungen des Pflanzenphysiologen Haberlandt³⁾ müssen wir indessen die Bedeutung mechanischer Momente für die Geschwulstetiologie in einer neuen Richtung diskutieren. Denn dieser Forscher konnte nachweisen, daß nach einer traumatischen Verletzung Zellen, die dem Orte des Traumas benachbart sind, Stoffe ausscheiden, die zu Zellenproliferationen reizen. Inwieweit die letzteren einen so er-

1) l. c.

2) Zur Aetiologie der Geschwülste vom klinischen Standpunkt. (Lubarsch-Ostertag, *Ergebn. d. allgemein. pathol. Morphol. usw.* Bd. 2. 1895. p. 527.)

3) Sitzungsber. d. Kgl. Preuß. Akad. d. Wiss. Bd. 16. 1913. p. 318 ff.

heblichen Umfang erreichen, daß an der Stelle des Traumas ein Tumor resultiert, ist abhängig von der individuellen Disposition. Die Untersuchungen von Haberlandt bieten insbesondere für die als Keloide bezeichneten Tumoren eine ätiologische Erklärung.

Zu den Organen, die das physiologische Wachstum durch Produkte der inneren Sekretion regulieren, müssen wir nach dem gegenwärtigen Stande der Forschung bei dem Menschen die Hypophyse, bei den Cerviden die Testikel rechnen. Der Zoologe Lauterborn¹⁾ erörtert in seiner jüngsten Veröffentlichung, daß die Cerviden nach Exstirpation oder Atrophie der Testikel hemmungslose Wucherungen im Gebiete der Geweihanlage darbieten. Bei dem Menschen ruft die Exstirpation der Testikel keine Disposition zu Tumoren hervor. Dagegen veranlassen Erkrankungen der menschlichen Hypophyse hypertrophische und hyperplastische Prozesse, wie sie bei der Acromegalie beobachtet werden.

Nachdruck verboten.

Erfahrungen über den Schutz gegen den Läusestich.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von B. Galli-Valerio.

Die wichtige Rolle der Menschenläuse (*P. cervicalis* und *P. vestimenti*) bei der Uebertragung des Typhus exanthematicus und des Rückfallfiebers hat viele Forscher veranlaßt, Mittel zu suchen, die imstande sind, den menschlichen Körper gegen ihren Stich zu schützen. In diesem Sinne wurden sehr viele Substanzen empfohlen und in den Handel gebracht. In der Mehrheit der Fälle wurden die Experimente nur in vitro gemacht: konnte man feststellen, daß verschiedene dieser Substanzen in einem Gefäße imstande waren, Läuse zu entfernen oder zu töten, so schloß man, daß diese Substanzen gegen den Läusestich schützten. Im Gegensatz dazu habe ich meine Experimente auf meinem eigenen Körper gemacht. Als keine Kleiderläuse mir zur Verfügung standen, habe ich mit Kopfläusen experimentiert. Diese Parasiten habe ich auf meinen Vorderarm ganz frei aufgelegt. Vor allem habe ich probiert, ob *P. cervicalis* in meinen Vorderarm stechen würde, und habe sofort bemerkt, daß junge und alte Läuse stachen, und zwar unmittelbar, weil ihr Darm ganz oder ziemlich leer von Blut war. Sie stießen in die Haut ihren Rüssel ein und erhoben ihre hinteren Enden in einigen Fällen ganz senkrecht. Der Stich war nicht oder sehr wenig schmerzhaft, manchmal mit einer Empfindung von Prickeln längs der Nerven der Hand begleitet. Mit einer Lupe bemerkt man, daß der Verdauungsapparat sich wie eine Pumpe kontrahiert und mit Blut füllt. In einigen Fällen, aber nicht immer, sieht man an dem hinteren Ende der Läuse etwas Blut hervortreten. Während des Stechens bleiben die Läuse ganz unbeweglich, dann beginnen sie, die Füße zu bewegen und gehen dann schnell von dem Ort fort, wo sie gestochen haben. Die Dauer

1) Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 15. 1915. p. 173 ff.

des Stiches ist sehr verschieden: 5—10—20—60—80 Minuten, je nach der größeren oder geringeren Leichtigkeit, Blut zu saugen. Im allgemeinen bleiben sie 10—20 Minuten fixiert. An demselben Tage können sie manchmal zweimal stechen.

Ich habe das während des Stiches entleerte Blut untersucht und Bakterien und in einigen Fällen Spermatozoïden, die Spirochäten glichen, bemerkt. Mit Giemsa gefärbt, zeigten diese Spermatozoïden eine rötliche Färbung.

Nach diesen Experimenten habe ich auf meinen Vorderarm verschiedene Substanzen gebracht, und zwar ganz in die Nähe der Läuse.

Die Ergebnisse finden sich in folgender Tabelle:

Substanzen	Stich			Gestorben sofort oder einige Stunden nach dem Stich
	auf der Substanz	am Rande der Substanz	in der Nähe der Substanz	
1. Ol. bergamottae	×	×	—	+
2. Ol. carvi opt.	×	×	—	+
3. Ol. valerian. ver.	—	×	—	+
4. Ol. patschouly opt. eff.	—	×	—	+
5. Ol. sabinæ Ia	—	×	—	+
6. Ol. therebentinae	×	×	—	+
7. Ol. calami arom.	—	×	—	+
8. Ol. pini pumilion.	—	×	—	+
9. Ol. citri spf.	—	×	—	+
10. Ol. rosmarini extra	—	×	—	+
11. Ol. rutæ gallic.	×	—	—	+
12. Ol. lupoli	×	—	—	+
13. Ol. anisi mosc.	×	—	—	+
14. Ol. lavendul. I. Quint.	×	—	—	+
15. Ol. ment. pip. Germ. bisrect. extra	—	×	—	+
16. Ol. eucalypti	—	×	—	+
17. Ol. origani	×	×	—	+
18. Ol. thymi alb.	×	×	—	+
19. Ol. cajeput. rect.	×	—	—	+
20. Ol. caryophylli opt. rect. alb.	—	×	—	+
21. Ol. caryophylli	×	×	×	+
22. Ol. cinnamom. ceyl.	—	×	—	+
23. Ol. cinnamom.	—	×	—	+
24. Ol. aurantior flor turc.	×	—	—	+
25. Tinct. moschi	×	—	—	+
26. Mikrothan	×	—	—	+
27. Flieder-Aethrol	—	×	—	+
28. Eau de Cologne-Deci- äthrol	×	—	—	+
29. Eucalyptus-Aethrol	×	—	—	+
30. Waldduftäthrol	×	—	—	+
31. Aethrol für Kranken- zimmer	×	—	—	+
32. Pfefferminz-Deci- äthrol	—	×	—	+
33. Heliothrop-Deciäthrol	×	—	—	+
34. Nelken-Deciäthrol	×	—	—	+
35. Xylol.	×	—	—	+
36. Bals. peruvian.	—	×	×	+
37. Guaiakol	—	—	—	+
38. Naphtalin. pulv.	×	×	—	+
39. Pulv. pyrethri. Dalm.	×	×	—	+
40. Kampfersalbe 20%	—	×	—	+

× Stich; — kein Stich; + gestorben.

Aus vorstehender Tabelle ersehen wir, daß von 40 angewendeten Substanzen keine imstande war, den Stich von *P. cervicalis* zu verhindern. Diese Parasiten haben nicht nur in der Nähe, sondern auch am Rande und selbst auf der Substanz gestochen. Wenn in vielen Fällen die Läuse nach dem Stich gestorben sind, so hatten sie schon gestochen und hatten also, wenn infiziert, schon Typhus exanthematicus oder Rückfallfieber übertragen. Hätte ich meine Experimente in vitro gemacht, so wäre ich zu anderen Schlüssen gekommen, denn ich habe bemerkt, daß Läuse, in kleine Gefäße mit verschiedenen dieser Substanzen gebracht, schnell fortliefen und, wenn in die Substanz zurückgebracht, schnell zugrunde gingen. Aber auf der Haut ist es ganz anders: der Hunger veranlaßt hier die Läuse, auch auf der Substanz zu stechen. Damit will ich nicht sagen, daß man alle diese Substanzen nicht anwenden darf. Wenn sie auf die ganze Körperoberfläche oder in die Kleider gebracht werden, ist ihr Geruch stärker als auf dem nackten Arm, und sie können daher besser schützen. Schon vor einigen Jahren hatte ich in einer Arbeit, die wegen des Krieges noch nicht erschienen ist¹⁾, bemerkt, daß Naphthalin, in ein Bett gestreut, gegen Wanzenstiche schützt. Diese Substanz, die auch Blaschko²⁾ gegen Läusestich empfohlen hat, halte auch ich für diejenige, die eine praktische Anwendung finden kann.

Aber im allgemeinen bleibt größte Reinlichkeit des Körpers, der Wäsche und der Kleider, und für Aerzte und Krankenpfleger das Schließen der freien Enden der Ärmel und Hosen der beste Schutz gegen Läuse.

Zusammenfassung.

1. Von 40 Substanzen, mit welchen ich experimentiert habe, war keine einzige imstande, gegen den Stich der Läuse mit Sicherheit zu schützen.

2. Alle diese Substanzen haben nur eine relative, aber keine sichere Schutzwirkung gegen die Läuse.

5. Sept. 1915.

1) In: Handb. d. Immunitätsforsch. 2. Aufl.

2) Deutsche med. Wochenschr. 1915. p. 12.

Nachdruck verboten.

Ueber die Hundekrankheit Nambi-uvu und ihren Parasiten, *Rangelia vitalii*.

Von Prof. Dr. A. Carini, São Paulo.

Mit 2 Tafeln.

Man kennt in Brasilien eine interessante Hunde-Infektionskrankheit, die besonders unter den Jagdhunden große Sterblichkeit verursacht und als Nambi-uvu¹⁾ bezeichnet wird. Diese Bezeichnung stammt aus dem Guarany und bedeutet „Blutendes Ohr“, weil Blutungen aus dem Ohr eines der häufigsten Symptome dieser Krankheit sind. Wegen des sehr oft auftretenden Ikterus wird Nambi-uvu auch „Gelbes Fieber“ der Hunde genannt und wegen der Blutungen „Blutpest“ (peste de sangue).

In einer von Carini²⁾ im Jahre 1908 veröffentlichten Mitteilung über die häufigsten Krankheiten der Haustiere in Brasilien wird diese Zoonose erwähnt und wegen der Aehnlichkeit mit der Gelbsucht der Hunde (jaunisse maligne) der Verdacht erhoben, daß es sich um eine Piroplasmose handelt. Dieser Verdacht ist später, und zwar im Jahre 1910, von Bruno Rangel Pestana³⁾ vom Institut Butantan bestätigt worden. Dieser Forscher hat die Krankheit studiert, den Erreger gefunden und unter dem Namen *Piroplasma vitalii* beschrieben. In seiner Mitteilung werden von Rangel Pestana neben der Symptomatologie auch die Resultate seiner Versuche angegeben.

Da wir einige spontane Fälle von Nambi-uvu beobachtet haben, benutzten wir die Gelegenheit, einige Versuche zu dem Zwecke anzustellen, um die schon gemachten Studien über die Infektion und ihren Erreger zu bestätigen und, wenn möglich, auch noch zu vervollständigen.

Nambi-uvu kann während des ganzen Jahres beobachtet werden, tritt aber häufiger im Sommer auf. Unter den Jagdhunden werden hauptsächlich die Rassehunde und unter diesen vorzüglich die jungen von Nambi-uvu betroffen. — Die Krankheit tritt gewöhnlich nach einer Jagd auf.

Symptomatologie.

Es ist nicht leicht, ein umfassendes Bild der Symptomatologie der Nambi-uvu zu geben, weil die Erscheinungen sehr verschieden sind. Manchmal gehen die Tiere sehr schnell zugrunde, aber manchmal ist die Krankheit so leicht, daß sie fast unbemerkt bleibt und nur durch Experimente zu erkennen ist. Wir können verschiedene Formen unterscheiden:

a) Akute oder ikterische Form:

Bei dieser Art, die einen schweren Verlauf nimmt, wird das Tier

1) Wir sprechen hier Herrn Horacio de Carvalho, hervorragendem Philologen und Indianerkenner, dem wir die Bedeutung und den Ursprung dieses Wortes verdanken, unseren besten Dank aus.

2) Carini, A., *Noticias sobre as zoonoses observadas no Brazil*. (Rev. med. de São Paulo. 1908. p. 459.)

3) Pestana, Bruno Rangel, *O nambyuvu*. (Rev. med. de São Paulo. 1910. p. 423.)

traurig, matt, gleichgültig gegen seine Umgebung, unsicher auf den Beinen, hat erloschenen Blick, hängende Ohren und gesträubte Haare. Es bellt und frißt nicht und bei der geringsten Anstrengung gerät es außer Atem. Die Temperatur nimmt unregelmäßig zu und schwankt zwischen 38,5° und 40° C. Nach wenigen Tagen zeigt sich eine, manchmal sehr ausgesprochene, Gelbsucht. Die Schleimhäute werden sehr blaß und gelblich; gleiche Färbung bemerkt man auch an der dünnen Haut auf der Innenseite der Schenkel. Die aufgetretene Blutarmut nimmt immer mehr zu und erreicht schließlich einen sehr hohen Grad. Unter diesen Umständen stirbt das Tier bald, und der Tod erfolgt in der Regel zwischen dem 3. und dem 10. Tage der Krankheit.

b) Subakute oder hämorrhagische Form:

Diese Form ist besonders durch Hauthäorrhagieen gekennzeichnet, die sich entweder an den Ohren, an der Haut des Rückens oder an anderen Teilen des Körpers zeigen. Diese Dermatorhagieen sind spontan, wiederholen sich in mehr oder weniger regelmäßigen Zwischenräumen, und werden stärker, wenn das Tier durch Laufen ermüdet wird. Es sind dies kapillare Häorrhagieen und zeigen fast keine makroskopischen Merkmale; man sieht nur ein kleines Loch in der Haut, aus dem das Blut hervorsickert¹⁾. Bei dieser Art treten häufig innere Häorrhagieen und Enterorhagieen auf. Eine Vergrößerung der Lymphdrüsen kommt fast immer vor. Die hämorrhagische Form ist weniger schwer als die ikterische, so daß die Sterblichkeit nicht so groß ist. In den Fällen, die in Heilung ausgehen, hören die Häorrhagieen nach gewisser Zeit auf, und der Appetit und die Kräfte des Tieres heben sich allmählich.

c) Chronische oder leichte Form:

Bei dieser Art treten keine charakteristischen Symptome auf; es zeigt sich nur Appetitlosigkeit, Schwäche, Blutarmut und fortwährende Abmagerung, so daß eine klinische Diagnose fast unmöglich ist. Die meisten dieser Fälle führen zur Heilung.

Experimentelle Infektion.

Die Krankheit ist auf Hunde übertragbar, und besonders empfindlich sind neugeborene Hunde. Sämtliche Uebertragungsversuche auf andere Tiere sind negativ ausgefallen. Das Blut und die Organe der kranken Tiere sind virulent. Die Infektion kann auf subkutanem, endovenösem, intramuskulärem und intraperitonealem Wege übertragen werden. Die auf gastrischem Wege angestellten Versuche sind resultatlos geblieben. Bei der experimentellen Infektion bemerkt man die gleichen Symptome wie bei der spontanen Krankheit. Durch die Einspritzungen erhält man jedoch selten die hämorrhagische Form, während sie bei der natürlichen Infektion die häufigste ist. Wenn neugeborene Hunde infiziert werden, tritt nach einer Inkubationszeit von 3—10 Tagen die ikterische Form auf, welche gewöhnlich einen schnellen, tödlichen Verlauf nimmt. Die ikterische Form zeigt sich hingegen sehr selten, wenn wir erwachsene Tiere infizieren. Bei diesen tritt entweder nur die chronische

1) Es ist uns noch nicht gelungen, die mikroskopischen Läsionen, welche diese Häorrhagieen verursachen, nachzuweisen. Da wir die Vermutung hegten, daß solche Häorrhagieen z. B. durch *Filaria* verursacht wären (wie es bei manchen hämorrhagischen Knötchen der Pferde vorkommt), haben wir in dieser Hinsicht zahlreiche Versuche angestellt, aber immer mit negativem Erfolg.

Form auf oder es bleiben überhaupt jedwede Symptome aus. Diese Mißerfolge rühren wahrscheinlich von einer durch vorhergegangene Infektion entstandenen Immunität her. Die Inkubationszeit schwankt in weiten Grenzen und hängt von der Virulenz der Parasiten und der Empfänglichkeit des Hundes ab. Bei der akuten Form ist diese Periode kurz; sie dauert kürzestens 3 Tage; bei der subakuten Form schwankt sie zwischen 8 und 15 Tagen, und bei den chronischen Formen erreicht sie 25 Tage und mehr.

Diagnose.

Der Ikterus und die Blutarmut, begleitet von intermittenten Temperatursteigerungen, erlauben die Diagnose bei den ikterischen Formen. Die Haut- und Schleimhautblutungen, die Enterorhagieen, die Blutarmut, die Schwellung der Lymphdrüsen und die Fiebererscheinungen gestatten die Diagnose bei hämorrhagischen Fällen. Die Anwesenheit der Parasiten, die jedoch immer nur in ganz geringer Zahl im Blute oder im Lungen- und Nierensaft vorhanden sind, bestätigt die Diagnose¹⁾.

Bei der chronischen Form sind die Symptome allein (Appetitlosigkeit, Blutarmut, Schwäche und Abmagerung), die schließlich auch bei vielen anderen Krankheiten vorkommen können, nicht maßgebend. Außerdem können wir in diesen Fällen die Parasiten, selbst bei sorgfältigsten Untersuchungen, nur ausnahmsweise finden. Die einzige Möglichkeit, die Diagnose festzustellen, ist das Gelingen der experimentellen Uebertragung der Krankheit.

Pathologische Anatomie.

Die Haut ist bei der ikterischen Form gelb, besonders intensiv an der inneren Bauch- und Schenkelseite; bei der hämorrhagischen Form ist sie mit kleinen, blutigen Punkten, die besonders an den nackten Stellen sichtbar sind, übersät.

Das subkutane Zellgewebe ist besonders am Bauche stark ödematös, und zwar serös bei der ikterischen oder blutig bei der hämorrhagischen Form.

Das Blut ist auffallend hell, sehr flüssig und gerinnt nur langsam.

Die Schleimhäute sind ebenfalls stark ikterisch, leicht geschwollen; kleine Herde von kapillären Hämorrhagieen sind bei der hämorrhagischen Form stets vorhanden.

Die Serosa der Pleura, des Pericardiums und des Peritoneums sind rauh, leicht verdickt, gelblich, mit kapillären Hämorrhagieen durchsetzt. In diesen serösen Höhlen finden wir ein serös-fibrinöses oder blutig-seröses Exsudat.

1) Wir wollen hier noch bemerken, daß wir manche Hunde beobachtet haben, die unter ganz ähnlichen Symptomen wie bei der ikterischen Form des Nambi-uvu zugrunde gegangen sind, und bei denen die sorgfältigste Untersuchung des Blutes, der Strichpräparate und Organschnitte keine Anwesenheit der Parasiten erkennen ließ. Es scheint uns deshalb möglich, daß es sich in diesen Fällen um eine andere, neue, infektiöse Krankheit handelt (*Icterus malignus infectiosus*). Die künstliche Erzeugung derselben durch Einspritzung von Organsaft erkrankter Tiere ist uns aber nur bei neugeborenen Hunden gelungen. Die Krankheit dauert gewöhnlich 7 Tage und führt stets zum Tode. Das Tier wird traurig, matt, appetitlos, zeigt intensive gelbe Färbung der Haut und Schleimhäute, Ergüsse in den Serosen und hochgradige Anämie. Der einzige Unterschied, den wir bisher zwischen dieser Erkrankung und der ikterischen Form des Nambi-uvu gefunden haben, ist eben die gänzliche Abwesenheit der Parasiten.

Die Lymphdrüsen sind leicht hypertrophisch, mit gelblicher oder hämorrhagischer Flüssigkeit getränkt.

Die Lungen sind ödematös, auf der Schnittfläche rot oder gelblich, mit zahlreichen pneumonischen Herden.

Das Herz und die großen Gefäße sind leicht erweitert. Das Myocardium ist von verminderter Konsistenz, strohgelb und mit kleinen, hämorrhagischen Herden besät. Die Intima der Aorta und der anderen großen Gefäße ist bei der ikterischen Form durch Gallenfarbstoffe infiltriert.

Die Leber ist hypertrophisch, von intensiv gelber Färbung und verringerter Konsistenz.

Die Milz ist vergrößert, weich und matschig.

Die Nieren sind ebenfalls vergrößert, von verringerter Konsistenz, intensiv gelb gefärbt, und die Kapsel ist leicht abziehbar. Die Rindensubstanz ist in der hämorrhagischen Form stark hyperämisch.

Die Nebenniere ist vergrößert und bei der subakuten Form stark hämorrhagisch punktiert. Die Rindensubstanz ist vergrößert und die Marksubstanz zerfließend.

Magen und Eingeweide enthalten eine gelbliche oder blutige Flüssigkeit.

Das Knochenmark ist zerfließend und von intensiv roter Färbung.

Die Dura mater ist leicht verdickt, die Meningen weich, durch seröse Flüssigkeit, die gelb oder blutig gefärbt ist, infiltriert; kleine hämorrhagische Herde oder Infiltration von Gallenpigment finden sich in der Cortex.

Dieselben Erscheinungen finden wir beim Rückenmark. Das Blutserum und der Urin weisen eine große Menge von Gallenfarbstoffen auf. — Wir sehen also, daß die pathologische Anatomie der Krankheit nicht besonders von dem Bilde anderer Infektionskrankheiten abweicht, abgesehen von der gelblichen Pigmentierung bei der ikterischen Form und den kapillären Hämorrhagieen bei der hämorrhagischen.

Pathologische Histologie.

Um die histologischen Veränderungen studieren zu können, haben wir kleine Stückchen der Organe und Gewebe zurückbehalten und sie in Sublimatalkohol nach Schaudinn und in 10-proz. Formol fixiert. Die Schnitte haben wir nach den Methoden von Giemsa, Heidenhain (Eisenhämatoxylin), van Gieson und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Bei der Untersuchung der Schnitte finden wir alle Merkmale der chronischen oder akuten Entzündung, kleinzellige Infiltration, Oedem, Hyperplasie des Bindegewebes und Gefäßneubildung; Erweiterung und Zerreißen der Kapillaren mit Bluterguß, hyaline Degeneration der Muskelfasern, braune Atrophie des Myocardiums, fettige Entartung und Gallenpigmentierung der Zellen des Drüsengewebes, besonders derjenigen der Leber und der Nieren. Die mikroskopische Untersuchung des Blutes läßt starke Anzeichen von Anämie erkennen: Anisocytose, Poikilocytose, Polychromatophilie und Anwesenheit von kernhaltigen Blutkörperchen. Wir finden auch solche Blutkörperchen, die in der Nähe des Randes kleine basophile Körperchen aufweisen, den Anaplasmen sehr ähnlich. Im Anfangsstadium der Krankheit findet man Leukocytose, während man gegen Ende derselben Leukopenie vorfindet.

Aetiologie.

Der Erreger dieser Krankheit ist ein Protozoon, welches eine gewisse Aehnlichkeit mit dem *Piroplasma canis* aufweist, aber sich von ihm noch durch wichtige Merkmale unterscheidet. Dieser Erreger wurde zum ersten Male von Bruno Rangel Pestana aufgefunden, der ihn sehr gut beschrieb und ihn *Piroplasma vitalii* benannte. Bei den akuten Fällen, besonders in den letzten Stadien der Krankheit, findet man den Parasiten häufig im peripheren Blute. Gewöhnlich sind die Erreger in ganz geringer Anzahl und nur ausnahmsweise zahlreich vorhanden. Es scheint, daß das Auftreten des Parasiten im Blute mit der Temperaturerhöhung koinzidiert. Bei den hämorrhagischen oder bei den leichteren Fällen hingegen lassen sich selbst bei wiederholten Blutuntersuchungen in der Regel keine Parasiten nachweisen.

Der Blutparasit findet sich endoglobulär in Form eines kleinen, glänzenden Körperchens. Bei sorgfältigen Untersuchungen von frischen Präparaten ist es uns nie gelungen, aktive Bewegung oder Anwesenheit von Pigment nachzuweisen. In den Fällen, wo die Parasiten ausnahmsweise zahlreich waren, beobachteten wir die spontane Agglutination des parasitenhaltigen Blutkörperchens. Bei den Präparaten, die nach Leishman, Giemsa und nach der panoptischen Methode von Pappenheim gefärbt wurden, zeigt das Protoplasma alveoläre Struktur und färbt sich blau, oft heller in der Mitte. Der Kern ist rund, kompakt, hellrot gefärbt und sitzt gewöhnlich exzentrisch neben dem Rande. Die kleinsten Parasiten messen ca. $2\ \mu$ im Durchmesser und die größten ca. $3\frac{1}{2}$ — $4\frac{1}{2}\ \mu$.

Diese endoglobulären Parasiten finden sich gewöhnlich paarweise und sind verschieden geformt, und zwar rund, oval oder birnenförmig. Die birnenförmigen Formen, die dem *Piroplasma canis* sehr ähnlich sind, lagern sich zu zweien, manchmal mit einander zugekehrten, manchmal abgewendeten Spitzen. Die Vermehrung dieses Parasiten geschieht durch Zweiteilung; man kann leicht sämtliche Teilungsphasen sehen. Die Teilung fängt im Kerne an, und man findet etwas größere Parasiten mit 2 Kernen. Nachher teilt sich auch das Protoplasma, und es entstehen 2 Parasiten, die innerhalb des Blutkörpers verbleiben. Nicht selten finden wir Blutkörperchen mit 3, 4 oder mehr Parasiten. Das parasitenhaltige Blutkörperchen wird manchmal etwas hypertrophisch und heller. Außer den endoglobulären Formen beobachtet man, besonders bei Strichpräparaten aus Organen, Parasiten, die frei sind und verschiedene Größen aufweisen; von diesen befinden sich einige in verschiedenen Teilungsphasen. In diesen Strichpräparaten, noch besser aber in den Schnitten, trifft man Haufen von Parasiten, die durch Schizogonie entstanden sind. Diese Formen zeigen eine große Aehnlichkeit mit den Leishmanschen Körperchen, lassen sich aber leicht von diesen unterscheiden, weil der Blepharoplast gänzlich fehlt. Um den feinen Bau des Kernes zu studieren, haben wir zahlreiche Präparate, besonders mit Feuchtfixierung und Eisenhämatoxylinfärbung, gemacht. Niemals konnten wir aber einen Doppelkern konstatieren. Sämtliche Formen, die endoglobulären wie die freien aus den inneren Organen, zeigen stets einen einzigen Kern, der aber oftmals in Teilung begriffen ist. Im Blute, im frischen oder im feuchten Raume aufbewahrten Organ-saft haben wir nie flagellate Formen entdeckt. Die schizogonischen Formen bestehen aus Gruppen von 30—100 oder mehr Einheiten, die

in dem Protoplasma der Bindegewebs- oder endothelialen Zellen gelagert sind. Der Parasit, der sich durch Schizogonie zu teilen anschickt, dringt in eine dieser Zellen ein und vergrößert sich. Das Chromatin und nachher das Protoplasma teilen sich, und so entstehen die Haufen der Merozoiten. Diese befinden sich gruppenweise in dem Protoplasma der Zelle, deren Kern an die Peripherie herangedrängt wird. Ein schmaler Saum des Protoplasmas umgibt die Parasitenmasse wie eine Membran. In diesem Haufen von 18—25 μ Durchmesser liegen die Merozoiten, manchmal in kompakten Massen, manchmal aber lose und durch Zwischenräume getrennt. Parasitenhäufungen kommen besonders in den Nieren, im Herz und in den Lungen vor, existieren aber auch in den anderen Organen inklusive dem Nervensystem.

Der Nambi-uvu-Parasit vermehrt sich also in dem Hundeorganismus auf zweierlei Arten: durch Zweiteilung oder durch Meerteilung, Schizogonie. In dieser Beziehung ähnelt er den Toxoplasmen, die sich auch durch ähnliche Prozesse vermehren. Bei *Piroplasma canis* ist indessen niemals eine Schizogonie beobachtet worden¹⁾.

Es scheint nun, daß wir hierin ein sehr wichtiges Unterscheidungsmerkmal besitzen, und halten es für notwendig, den Nambi-uvu-Erreger von dem Genus „*Piroplasma*“ zu trennen. Wir wollen ihn daher in eine neue Gattung einreihen, und schlagen vor, ihn nach Rangel Pestana, der ihn zuerst beobachtet hat, *Rangelia* zu benennen. Anstatt *Piroplasma vitalii* soll die neue Art „*Rangelia vitalii*“ genannt werden. *Rangelia* reiht sich somit den schon bekannten, zur Familie der Piroplasmidae gehörigen Gattungen *Piroplasma*, *Theileria*, *Nicolia*, *Nuttallia*, *Smithia* und *Rossiella* an²⁾.

Die Charakteristika der *Rangelia* sind somit ihr endoglobuläres Auftreten in runder, ovaler oder birnenförmiger Form und ihre Vermehrung durch Schizogonie innerhalb der Bindegewebs- oder endothelialen Zellen.

Prof. Nuttall³⁾, der manche von unseren Präparaten untersucht hat, lenkte unsere Aufmerksamkeit auf die Ähnlichkeit zwischen unseren Parasiten und den von ihm beim Schakal entdeckten und unter dem Namen „*Piroplasma*“ oder „*Rossiella Rossi*“ beschriebenen. Nuttall hat indessen nicht die Vermehrungsform bei inneren Organen nachgewiesen.

Die Kulturversuche von *Rangelia vitalii* in den Nährböden von Novy, Bassi, Toyoda und anderen sind immer negativ geblieben. Wie es bei anderen ähnlichen Blutparasiten vorkommt, bleiben die von Nambi-uvu während langer Zeit, selbst nach der Heilung, im Hundeorganismus lebendig. So hatten wir im Institute mehrere Monate eine Hündin, die von der hämorrhagischen Form der Krankheit wiederhergestellt war, deren Blut jedoch, jungen Hunden eingespritzt, immer die Krankheit wieder verursachte. Die geheilten Tiere bilden daher ein

1) Wir haben die von Prof. Nuttall uns in liebenswürdiger Weise überlassenen Organe eines Hundes, der durch *Piroplasma canis* zugrunde gegangen war, sorgfältig untersucht, ohne eine einzige Vermehrungsform gefunden zu haben, die als Schizogonie angesehen werden könnte.

2) França, C., Sur la classification des Piroplasmes. (Arch. do Institut. Camara Pestana. T. 3. 1909. Fasc. 3.)

3) Nuttall, On Haematozoa occurring in wild animals in Africa. (Parasitology. Vol. 3. 1910. No. 1.)

reihalen Zellen
eilen anstuf
Das Com
tehen die zu
dem Pro
wird. Ein
wie eine M
ren die M
und durch
ders in der
ch in den

in dem E
oder durch
den Torige
ei Piro
t worden

Unterstüt
en Natio
Wir w
vor. Mit
ngelie
t. R
den sch
tunen
a und

schon
nd ihre
ler en

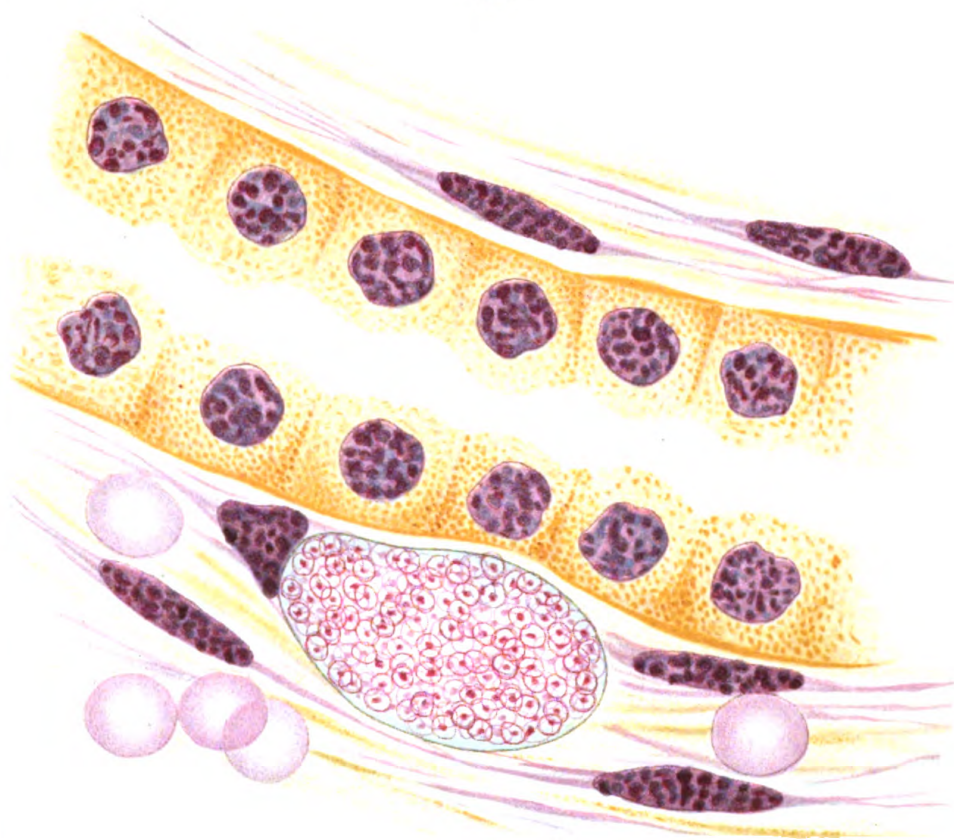
unter
ten unter
unter
unter
1. 177

der
der
die
H
re
re
re
re

re
re
re
re
re



26.

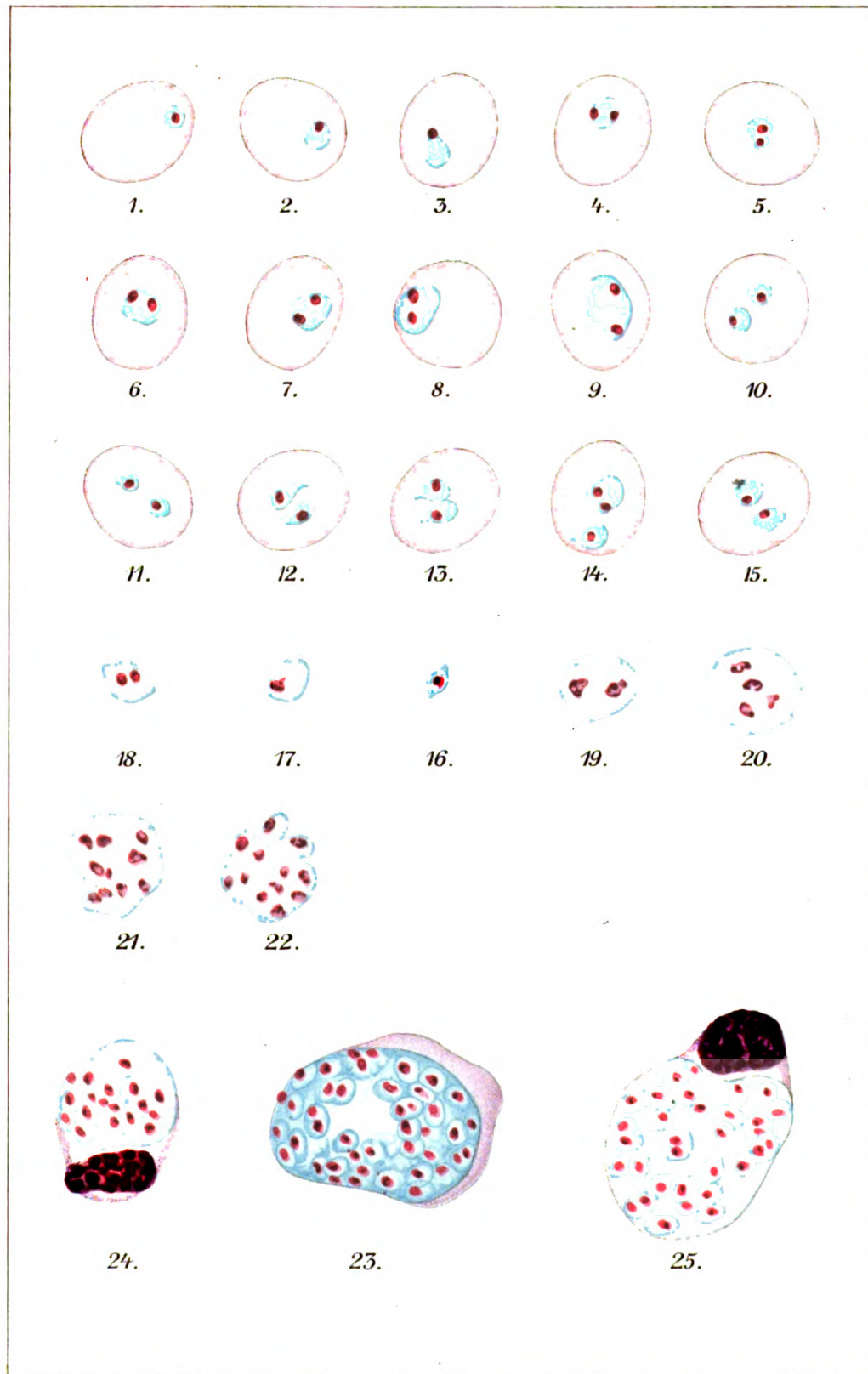


27.

Carini, Namburu

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Leipzig



Carini comp.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. v. J. W. Wagner in Jena.

Reservatorium des Virus und sind eine Quelle von neuen Infektionen, die wahrscheinlich durch Zwischenwirte übertragen werden. Man glaubt gewöhnlich, daß es die Zecken sind, welche diese Krankheit übertragen, und es scheinen wirklich die epidemiologischen Daten dafür zu sprechen. In der Tat bleiben Hunde, welche in der Stadt leben, von Nambi-uvu verschont, während Hunde vom Lande, hauptsächlich die, welche an Jagden teilnehmen und von Zecken geplagt werden, häufig von der Krankheit befallen sind. Wir haben bei solchen Hunden häufig *Am-blioma cayennense* und *A. striatum* gefunden. Leider erlauben uns die wenigen Versuche, die wir über die Rolle der Zecken als Ueber-träger dieser Krankheit angestellt haben, kein definitives Urteil.

Behandlung.

Der sehr verschiedene Krankheitsverlauf und die Unbeständigkeit der Inokulationsresultate erschweren uns das experimentelle Studium der Heilmittel. Dennoch haben wir in manchen Fällen durch wiederholte endovenöse Einspritzungen von Trypanblaulösung (1—2-proz., 10—20 ccm), besonders in den ersten Stadien der Krankheit, sehr erfreuliche Resultate zu verzeichnen^{1) 2)}.

Schlußfolgerung.

Es existiert in Brasilien eine schwere Infektionskrankheit der Hunde, im Volksmunde Nambi-uvu genannt, die durch Ikterus, durch Haut- und innere Blutungen charakterisiert ist und durch einen Parasiten aus der Familie der Piroplasmidae, „*Rangelia vitalii*“, erzeugt wird.

Erklärung der Tafeln.

Tafel I.

- Fig. 1—3. Einzelne Parasiten im Blutkörperchen. Färbung nach Giemsa.
 Fig. 4—9. Parasiten in Teilung innerhalb der Blutkörperchen. Färbung nach Giemsa.
 Fig. 10—15. Endoglobuläre Formen in verschiedenen Lagen. Färbung nach Giemsa.
 Fig. 16—22. Freie Formen in inneren Organen in verschiedenen Teilungstadien. Färbung nach Giemsa.
 Fig. 23—25. Schizogonie innerhalb der Zellen. Färbung nach Giemsa.

Tafel II.

- Fig. 26. Herzschnitt mit einem Parasitenhaufen innerhalb einer Zelle. Färbung nach Van Gieson.
 Fig. 27. Nierenschnitt mit einem Parasitenhaufen innerhalb einer Zelle. Färbung nach Van Gieson.

1) Carini e Maciel, Contribuição ao tratamento do nambi-uvu pelo trypanblau. (Rev. de Veterin. e Zootecn. 1914. p. 63.)

2) Durch mündliche Mitteilungen von Dr. Chagas wissen wir, daß er in zahlreichen Fällen die Heilung durch Einspritzungen von Chinin erzielt hat.

*Nachdruck verboten.***Beitrag zur Frage der Paragglutination.**

[Aus dem Kriegsgefangenenlager Hammerstein (Chefarzt: Generaloberarzt Dr. Reepel. Bakteriologische Abteilung).]

Von Stabsarzt Dr. **Karl Baerthlein**,
Hygieniker beim II. bayer. Armeekorps, komm. als Hygieniker zum Kriegsgefangenenlager Hammerstein.

Aus einem Transport frisch eingelieferter russischer Kriegsgefangener, unter denen einige Zeit vorher Typhus- und Ruhrerkrankungen in gehäufte Form aufgetreten waren, wurden wegen Ansteckungsverdachts eine Anzahl Leute, die während der letzten Wochen ihren Angaben zufolge an Durchfall gelitten hatten, der Quarantänestation des Gefangenenlagers zwecks genauer bakteriologischer Untersuchung überwiesen, um die Möglichkeit des Keimträgertums auszuschalten. Bei 6 von diesen ansteckungsverdächtigen Kriegsgefangenen wurden dann nach Stuhlausstrichen auf dem Lackmus-Laktose-Agar mittelgroße, zarte, blauwachsende Kolonien gefunden, die bei der Probeagglutination vom Paratyphus B-Immunserum (Titer 10000) in der Verdünnung 1:100 sofort agglutiniert wurden. Da indessen jene Kriegsgefangenen aus ruhrverseuchten Truppenteilen stammten, so wurden jene Kolonien auch mittels verschiedener Ruhrimmunsera in der Probeagglutination geprüft und überraschenderweise von einem Flexner-Ruhr-Immunserum ebenfalls prompt agglutiniert. Die anschließend mit dem Paratyphus B- bzw. Flexner-Ruhr-Immunserum durchgeführte Austitrierung jener Stämme lieferte die in Tabelle I niedergelegten Ergebnisse.

Tabelle I.

No.	Bezeichnung der Stämme	Serumverdünnung					Kochsalzkontrolle	Art des Immunserums
		1:100	1:500	1:1000	1:3000	1:5000		
1	1586	+++	++	++	+	0	0	Paratyphus B-Eselserum Titer: 10 000
2	454	+++	++	++	0	0	0	
3	7018	+++	++	++	+	0	0	
4	6998	+++	++	+	±	0	0	
5	7003	+++	++	++	+	0	0	
6	6792	+++	++	++	+	0	0	
7	Paratyphus B	+++	+++	+++	++	++	0	
						1:5000	1:10000	Kochsalzkontrolle
8	1586	+++	+++	++	+	±	0	Flexner-Ruhr-Eselserum Titer: 10 000
9	454	+++	++	+	+	+	0	
10	7018	+++	+++	++	+	+	0	
11	6998	+++	++	+	+	±	0	
12	7003	+++	++	++	+	±	0	
13	6792	+++	++	++	+	±	0	
14	Flexner-Ruhr	+++	+++	++	++	+	+	0

Wie aus Tabelle I ersichtlich ist, wurden von den 6 erwähnten Kulturen 4 von dem Paratyphus B-Immunserum bei Verdünnung 1:3000 noch kräftig, 1 bei der gleichen Serumverdünnung noch schwach und die 6. bei Serumverdünnung 1:1000 noch stark agglutiniert. Bei der

Prüfung mit Flexner-Immunserum geht die Agglutination noch höher, fast bis zur Titergrenze: es werden 2 Stämme bei der Serumverdünnung 1:5000 stark, die übrigen 4 Kulturen bei der gleichen Serumkonzentration noch schwach agglutiniert.

Was das morphologische und färberische Verhalten der Kulturen betrifft, so bestanden sie aus kurzen, feinen, lebhaft beweglichen, gram-negativen Stäbchen. Kulturell entsprachen sie auf den für die Differentialdiagnose der Typhus-Coli-Gruppe gebräuchlichen Nährböden den echten Paratyphus B-Bacillen; sie erzeugten also, wie aus Tabelle II hervorgeht, in der Lackmusmolke zunächst schwache Trübung und Rötung, der nach 48 Stunden ein von der Oberfläche des flüssigen Nährbodens allmählich nach abwärts zu fortschreitender Umschlag in Blau folgte. Milch wurde innerhalb 48 Stunden nicht verändert. Barsiekow I (Lackmus-Nutrose-Traubenzuckerlösung) zeigte Rötung und Gerinnung, während Barsiekow II (Lackmus-Nutrose-Milchzuckerlösung) unverändert blieb. In der Lackmus-Nutrose-Mannitlösung nach Hetsch trat Rötung, Gerinnung und Gasbildung ein. Ferner wurde Traubenzuckerbouillon von den Kulturen vergoren, Milchzuckerbouillon zeigte dagegen einfache Trübung, keine Gasbildung. Im Neutralrotagar kam es zu Gasbildung, geringer Aufhellung und Fluoreszenz.

Tabelle II.

No.	Bezeichnung der Stämme	Lackmusmolke	Milch	Barsiekow I	Barsiekow II	Lackmus-Nutrose-Mannitlösung nach Hetsch	Traubenzuckerbouillon	Milchzuckerbouillon	Neutralrotagar
1	1586	Beginnende Blaufärbung und Trübung	θ	Rötung und Gerinnung	θ	Rötung, Gerinnung, Gasbildung dgl.	Trübung und Gasbildung	Trübung	Gasbildung, Aufhellung, Fluoreszenz dgl.
2	454	dgl.	θ	dgl.	θ	dgl.	dgl.	"	"
3	7018	"	θ	"	θ	"	"	"	"
4	6998	"	θ	"	θ	"	"	"	"
5	7003	"	θ	"	θ	"	"	"	"
6	6792	"	θ	"	θ	"	"	"	"
7	Paratyphus B	"	θ	"	θ	"	"	"	"
8	Flexner Ruhr	Rötung und Trübung	θ	Rötung und starke Trübung (beginnende Gerinnung)	θ	Rötung und Trübung	Trübung	"	θ

Die Gruber-Widalsche Probe, bei der die einzelnen Menschen- sera jeweils mit dem zugehörigen Stamm auf das Vorhandensein spezifischer Antikörper geprüft wurden, führte, wie Tabelle III erkennen läßt, in 5 Fällen zu einem positiven Ergebnis, und zwar erreichte die Agglutination bei den Kulturen 1586, 454, 7018 einen Verdünnungstiter von 1:200, bei 6792 sogar einen solchen von 1:400. Der Stamm 6998 wurde bei Serumverdünnung 1:50 stark, bei der von 1:100 geringer, aber noch deutlich agglutiniert; bei Kultur 7003 fiel die Prüfung negativ aus.

Nach dem bisherigen Gang der Untersuchung gewinnt man also zunächst den Eindruck, als ob bei den 6 erwähnten Kriegsgefangenen

Tabelle III.

No.	Bezeichnung der Stämme	Serumverdünnung				Kochsalz- kontrolle
		1:50	1:100	1:200	1:400	
1	1586	++	++	+	0	0
2	454	++	+	+	0	0
3	7018	++	++	+	0	0
4	6998	++	±	0	0	0
5	7003	±	0	0	0	0
6	6792	++	++	+	+	0

eine überstandene Paratyphus B-Infektion vorliegt, nach deren klinischem Abklingen zurzeit noch eine Paratyphus B-Bacillenausscheidung stattfindet. Denn die isolierten Stämme verhielten sich morphologisch und kulturell (auf den verschiedenen Differentialnährböden) wie echte Paratyphus B-Kulturen; sie wurden ferner von dem Paratyphus B-Immuns serum noch in beträchtlicher Serumverdünnung, wenn auch nicht bis zur Titergrenze, kräftig agglutiniert. Diese die Serumtitergrenze nicht vollkommen erreichende Agglutinabilität der Kulturen berechtigt keineswegs, an der Zugehörigkeit der Stämme zu den Paratyphus B-Bacillen zu zweifeln, da ein derartiges Verhalten gegenüber einem bestimmten Paratyphus B-Immuns serum auch bei echten Paratyphus B- bzw. Bac. suipestifer-Stämmen nicht selten beobachtet wird und Rimpau zu dem Vorschlag veranlaßt hat, man solle bei der Paratyphus B-Diagnose zur Identifizierung fraglicher Stämme stets mehrere Paratyphus B-Immuns sera heranziehen. Weiterhin sprach die in 5 Fällen positiv verlaufene Gruber-Widalsche Probe für die Pathogenität der Kulturen und so in gewissem Grade auch für deren Paratyphus B-Natur.

Handelte es sich nun bei den beschriebenen Stämmen um echte Paratyphus B-Bacillen, so mußte bei den 6 Menschensera auch die Gruber-Widalsche Probe mit einem echten hochagglutinablen Paratyphus B-Stamm annähernd den gleichen Ausfall der Reaktion, also in den 5 Fällen ein positives Ergebnis liefern. Das Resultat dieser Prüfung ist in Tabelle IV wiedergegeben, die außerdem noch das Ergebnis analoger Gruber-Widalscher Untersuchungen mit einem Flexner-Ruhr-Stamm enthält. Da die ziemlich hohe Agglutination der isolierten, anscheinend echten Paratyphus B-Kulturen durch das Flexner-Immuns serum immerhin auffallend war, so erschien diese zur Kontrolle vorgenommene Auswertung der 6 Menschensera mit einem Flexner-Ruhr-Stamm bis zu einem gewissen Grade angezeigt.

Tabelle IV.

No.	Bezeichnung der Menschensera	Serumverdünnung				Kochsalz- kontrolle	Bezeichnung der Stämme
		1:50	1:100	1:200	1:400		
1	1586	0	0	0*	0	0	Paratyphus B
2	454	0	0	0	0	0	
3	7018	±	0	0	0	0	
4	6998	0	0	0	0	0	
5	7003	0	0	0	0	0	
6	6792	±	0	0	0	0	
7	1586	++	++	+	0	0	Flexner-Ruhr
8	454	++	+	+	0	0	
9	7018	++	+	±	0	0	
10	6998	++	±	0	0	0	
11	7003	+	0	0	0	0	
12	6792	++	++	+	+	0	

Wie aus der Tabelle IV hervorgeht, fiel überraschenderweise die Gruber-Widalsche Probe mittels des Paratyphus B-Stammes bei sämtlichen 6 Menschenseris vollkommen negativ aus. Demnach handelte es sich bei den 6 Kriegsgefangenen nicht um eine überstandene Paratyphus B-Infektion, und die 6 isolierten Stämme konnten trotz ihrer morphologischen und kulturellen Uebereinstimmung mit den Paratyphus B-Bacillen und des relativ hohen Agglutinationstiters gegenüber dem Paratyphus B-Immunserum nicht mehr als echte Paratyphus B-Bacillen, höchstens als eine nahverwandte Gruppe angesprochen werden. Andererseits wies die in 5 Fällen gegenüber Flexner-Ruhr-Bacillen positiv verlaufene Gruber-Widalsche Probe mit aller Bestimmtheit darauf hin, daß bei jenen Darmkatarrhen Erkrankungen durch Flexner-Ruhr-Bacillen vorgelegen hatten, und die hohe serologische Beeinflussung der isolierten 6 Paratyphus B-ähnlichen Kulturen durch das Flexner-Immunserum erklärt sich somit als Paragglutination. Ein Vergleich der Tabelle III und des 2. Abschnittes von Tabelle IV ergibt weiterhin eine vollkommene Uebereinstimmung im Ausfall der Gruber-Widalschen Probe bei den einzelnen Seris gegenüber dem zugehörigen Stamm und der Flexner-Ruhr-Kultur. So sehen wir z. B. bei Serum 6792 einen positiven Widal-Titer von 1:400 für den eigenen Stamm 6792 und für die Flexner-Ruhr-Bacillen und ebenso bei den Seris 1586, 454, 7018 einen Widal-Titer von 1:200 für die zugehörigen Stämme und für die Ruhrbakterien, und wo die Gruber-Widalsche Reaktion, wie beim Serum 7003, für den eigenen Stamm negativ verläuft, ist dies auch gegenüber der Flexner-Kultur der Fall. Der positive Ausfall der Gruber-Widalschen Probe bei jenen 6 Menschenseris mit den zugehörigen Paratyphus B-ähnlichen Stämmen kann daher nicht als echter spezifischer Gruber-Widal gedeutet werden, sondern analog der Paragglutination jener Kulturen durch das Flexner-Immunserum als sogenannter Parawidal. Diese Erscheinung findet ihre Erklärung darin, daß jene Paratyphus B-ähnlichen Kulturen anscheinend durch die im Darm der Kranken stattgehabte Symbiose mit den Ruhrbacillen für das Flexner-Ruhr-Immunserum paragglutinabel geworden sind und infolgedessen auch bei der Gruber-Widalschen Probe wegen der zahlreich in jenen Menschenseris vorhandenen Agglutinine für die Flexner-Ruhr-Bacillen analoge Paragglutinationserscheinungen in Form des Parawidal zeigten. Für diese Auffassung, daß bei jenen Kriegsgefangenen früher eine Ruhrinfektion bestanden hatte, daß ferner jene Paratyphus B-ähnlichen Stämme durch die Symbiose eine jene Paragglutination bedingende Umstimmung ihrer Eiweißsubstanzen erfahren und Rezeptoren für die Agglutinine des Flexner-Ruhr-Immunserums angenommen hatten, erbrachte die weitere Untersuchung neue Beweise. Es wurden nämlich zur Klärung jener Erscheinungen im Abstand von 4—5 Tagen die Stuhlproben der 6 Kriegsgefangenen regelmäßig bakteriologisch fortuntersucht und dabei stets eine größere Anzahl der auf dem Conradi-Drigalskischen Nährboden blauwachsenden Kolonien abgeimpft und weiter verfolgt. Sie erwiesen sich dabei immer als jene Flexner-paragglutinabel gewordenen Paratyphus-ähnlichen Kulturen, bis es schließlich bei No. 7003 in der 6. Stuhluntersuchung gelang, morphologisch, kulturell und serologisch einwandfreie Flexner-Ruhr-Bacillen zu isolieren.

Was jene Paratyphus B-ähnlichen Stämme betrifft, so zeigte sich im Laufe der weiteren Untersuchung, daß nach 3-tägigem Stehen der Lackmus-

18*

Laktose-Agarplatten auf den blaugewachsenen Kolonien sich kleinste Tochterkolonien bildeten. Während aber die Mutterkolonien bei der Fortzüchtung ihre blaue Farbe beibehielten, wuchsen die jenen aufsitzenden Tochterkolonien nach der Ueberimpfung auf neue Drigalski-Conradi-Platten in Form von roten, dem *Bact. coli* ähnlichen Scheibchen. Auch auf den in der Differentialdiagnose der Typhus-Coli-Gruppe verwendeten besonderen Nährböden zeigten die rotwachsenden Sekundärkolonien ein dem *Bact. coli commune* durchaus entsprechendes Verhalten. Es wurde nämlich von diesen Kulturen innerhalb 48 Stunden die Lackmusmolke stark gerötet und getrübt und Milch zur Gerinnung gebracht. Bei Barsiekow I und II trat Rötung und Gerinnung ein; in der Lackmus-Nutrose-Mannitlösung nach Hetsch kam es zu Rötung, Gerinnung und Gasbildung. Traubenzucker- und Milchzuckerbouillon wiesen beide starke Gasbildung und Trübung auf. Im Neutralrotagar erfolgte kräftige Gasbildung, Aufhellung und Fluoreszenz. Die untersuchten 6 Paratyphus B-ähnlichen Kulturen erwiesen sich somit als zur Gruppe des *Bact. coli mutabile* gehörig. Daß diese Stämme als echte *Bact. coli mutabile*

Tabelle V.

No.	Bezeichnung der Stämme	Lackmusmolke	Milch	Barsiekow I	Barsiekow II	Lackmus-Nutrose-Mannitlösung nach Hetsch	Traubenzuckerbouillon	Milchzuckerbouillon	Neutralrotagar
1	1586 rot	Rötung und Trübung	Gerinnung	Rötung und Gerinnung	Rötung und Gerinnung	Rötung, Gerinnung, Gasbildung	Trübung und Gasbildung	Trübung und Gasbildung	Gasbildung, Aufhellung und Fluoreszenz dgl.
2	454 "	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	"
3	7018 "	"	"	"	"	"	"	"	"
4	6998 "	"	"	"	"	"	"	"	"
5	7003 "	"	"	"	"	"	"	"	"
6	6792 "	"	"	"	"	"	"	"	"
7	<i>Bact. coli commune</i> Stamm 1861	"	"	"	"	"	"	"	"
8	Paratyphus B	beginnende Blaufärbung und Trübung	θ	"	θ	"	"	θ	"

anzusprechen sind, und daß die rotwachsenden Tochterkolonien keine zufälligen Beimengungen waren, zeigt einmal der Ausfall der Indolprüfung, die mit 10 Tage alten Bouillonkulturen der auf dem Lackmus-Laktose-Agar blaugewachsenen Stämme nach der Methode von Kitasato-Salkowski vorgenommen wurde und im Gegensatz zu den als Kontrolle verwendeten Paratyphus B- und Flexner-Ruhr-Kulturen stark positiv verlief, ferner die Untersuchung jener rotwachsenden Sekundärkolonien auf etwaige Paragglutination durch das Flexner-Ruhr-Immunserum.

Wie Tabelle VI erkennen läßt, besteht auch bei den rotwachsenden Mutationsstämmen eine hohe Paragglutinabilität für Flexner-Ruhr-Immunserum, die bei einzelnen Stämmen sogar jene der blaugewachsenen Mutterkolonien noch übersteigt und z. B. bei den Kulturen 7018 und 7003 die Titergrenze des Ruhrimmunserums erreicht. Gleichzeitig weisen aber die rotwachsenden Tochterstämmen noch eine beträchtliche, wenn

Tabelle VI.

No.	Bezeichnung der Stämme	Serumverdünnung						Kochsalzkontrolle	Art des Immunserums
		1:100	1:500	1:1000	1:3000	1:5000	1:10000		
1	1586 rot	+++	+++	++	+	+	0	0	Flexner-Ruhr-Eselsersum Titer 10 000
2	454 "	+++	+++	++	+	+	0	0	
3	7018 "	+++	+++	++	+	+	+	0	
4	6998 "	+++	+++	++	+	+	0	0	
5	7003 "	+++	+++	++	++	+	+	0	
6	6792 "	+++	++	++	+	+	0	0	
7	Flexner-Ruhr	+++	+++	++	++	+	+	0	
8	1586 rot	++	+	±	0	0	0	0	Paratyphus B-Eselsersum Titer 10 000
9	454 "	++	+	0	0	0	0	0	
10	7018 "	+++	++	+	0	0	0	0	
11	6998 "	++	+	±	0	0	0	0	
12	7003 "	+++	++	+	0	0	0	0	
13	6792 "	++	+	±	0	0	0	0	
14	Paratyphus B	+++	+++	+++	++	++	+	0	

auch geringer als bei den Paratyphus B ähnlichen Mutterkolonien ausgeprägte serologische Beeinflussung durch Paratyphus B-Immunserum auf. Diese Agglutinabilität jener 6 Bact. coli mutabile-Kulturen durch Paratyphus B-Immunserum dürfte jedoch nicht als Paragglutination im strengen Sinne aufzufassen sein, sondern als einfache Gruppenreaktion. Darauf deutet vor allem der negative Ausfall der Gruber-Widal-Probe mit Paratyphus B-Bacillen hin, der im Zusammenhang mit dem negativen Untersuchungsergebnis der Stuhlproben eine Infektion der Kriegsgefangenen mit Paratyphus B-Bacillen auszuschließen gestattet und so bei dem Fehlen einer Symbiose zwischen jenen 6 Bact. coli mutabile-Kulturen und Paratyphus B-Stämmen eine Paratyphus B-Paragglutination bei jenen Bact. coli mutabile-Stämmen nicht aufklären könnte. Die Auffassung, daß es sich bei dieser Agglutinabilität gegenüber Paratyphus B-Immunserum um eine Verwandtschafts- oder Gruppenreaktion handelt, wird weiter gestützt durch die Feststellung, daß die Agglutinationsgrenze des Paratyphus B-Immunserums gegenüber jenen Kulturen (trotz gleich hohen Titer des benützten Paratyphus B- und des Flexner-Ruhr-Serums) wesentlich niedriger ist als bei der Paragglutination durch das Flexner-Serum, und daß die Bact. coli mutabile-Stämme eine nahe morphologische und kulturelle Verwandtschaft zu den Paratyphus B-Bacillen besitzen. Endlich steht damit auch die Tatsache im Einklang, daß von den isolierten 6 Bact. coli mutabile-Kulturen die blauwachsenden Mutanten, welche den Paratyphus B-Bacillen kulturell viel näher stehen als die rotwachsenden Bact. coli-ähnlichen Tochterkolonien, vom Paratyphus B-Immunserum auch stärker (meist bis zur Serumverdünnung 1:3000) beeinflußt werden als die rotwachsenden Mutationsformen, die nur bis zur Verdünnung 1:1000 durch jenes Serum agglutiniert werden; dagegen ist die Paragglutination durch Flexner-Immunserum bei beiden Kolonienarten (roten und blauen) ziemlich gleichmäßig hoch ausgeprägt.

Zusammenfassung.

1) Unter einem Transport frisch eingelieferter typhus- und ruhrverseuchter russischer Kriegsgefangener wurden bei 6 ansteckungsver-

dächtigen Leuten, die früher bereits an Durchfall gelitten hatten, auf den Conradi-Drigalski-Platten zarte, blauwachsende Kolonien festgestellt, die in der Probeagglutination (Verdünnung 1:100) sowohl von Paratyphus B- wie von Flexner-Ruhr-Immunserum prompt beeinflußt und bei der weiteren Austitrierung vom Paratyphus B-Serum (Titer 10000) meist bei Serumverdünnung 1:3000 und vom Flexner-Ruhr-Serum (Titer 10000) noch bei Serumverdünnung 1:5000 deutlich agglutiniert wurden.

2) Morphologisch (Beweglichkeit, Färbbarkeit) und kulturell (auf den Differentialnährböden der Typhus-Coli-Gruppe) entsprachen diese Kulturen in ihrem Verhalten durchaus den Paratyphus B-Bacillen. Ferner fiel die mit den einzelnen Patientenseris und dem zugehörigen Stamm ausgeführte Gruber-Widalsche Probe bis auf 1 Ausnahme positiv aus, so daß bei den 6 erwähnten Kriegsgefangenen anscheinend eine Paratyphusinfektion vorlag.

3) Der zur Kontrolle mit den gleichen Menschenseris und einem echten Paratyphus B-Stamme ausgeführte Gruber-Widal ergab jedoch wider Erwarten ein vollkommen negatives Resultat; die mit einem Flexner-Ruhr-Stamm vorgenommene Gruber-Widalsche Probe lieferte dagegen bei sämtlichen Seris mit 1 Ausnahme eine positive Reaktion, die bezüglich ihrer Stärke die gleichen Abstufungen wie beim Gruber-Widal jener Paratyphus B-ähnlichen Kulturen zeigte.

4) Dieser Ausfall der Gruber-Widalschen Proben spricht einerseits gegen Paratyphuserkrankungen bei jenen Kriegsgefangenen und somit auch gegen die Identität jener isolierten 6 Stämme mit echten Paratyphus B-Bacillen, andererseits aber für überstandene Ruhrinfektionen. Diese Auffassung wurde dadurch bestätigt, daß es bei der 6. Stuhluntersuchung eines jener Kriegsgefangenen endlich gelang, einwandfreie Flexner-Ruhr-Bacillen nachzuweisen.

5) Die Agglutination jener Paratyphus B-ähnlichen Stämme durch Flexner-Ruhr-Immunserum ist als Paragglutination zu deuten und analog dazu der positiv verlaufene Gruber-Widal jener Kulturen mit dem zugehörigen Menschenserum nicht als echter spezifischer Gruber-Widal, sondern als Parawidal zu betrachten, der zustandekommt einerseits durch die Paragglutinabilität der Paratyphus B-ähnlichen Stämme für das Flexner-Ruhr-Serum, andererseits durch die im Blut der Kriegsgefangenen bei der Ruhrinfektion mehr oder minder reichlich gebildeten, gegen Flexner-Ruhr gerichteten Antikörper.

6) Die 6 Paratyphus B-ähnlichen Stämme erwiesen sich im Laufe der weiteren Beobachtung als blauwachsende Mutationsformen („Mutterkolonien“) von *Bact. coli mutabile*-Kulturen.

7) Die relativ hohe Agglutination jener Stämme durch Paratyphus B-Immunserum ist nicht als Paragglutination, sondern als Verwandtschafts- oder Gruppenreaktion aufzufassen. Denn die auf dem Lackmus-

Laktose-Agar blauwachsenden Mutationstämme jener *Bact. coli mutabile*-Kulturen stehen morphologisch und kulturell den echten Paratyphus B-Bacillen sehr nahe. Die rotwachsenden Mutationsstämme, die sich erst nach mehrtägigem Stehen der Nährböden zunächst als kleine weißlichblaue Knöpfe oder Sekundärkolonien auf jenen blauwachsenden Mutationskolonien entwickeln und dann bei der Fortzüchtung auf den neuen Nährböden rote, dem *Bact. coli* vollkommen ähnliche Kolonien bilden, weichen kulturell von den echten Paratyphus B-Bacillen ganz beträchtlich ab; sie wurden daher auch vom Paratyphus B-Immunserum serologisch wesentlich geringer beeinflusst.

Nachdruck verboten.

Ein thermolabiler syphilitischer „Immunkörper“. Modifikation der Technik der Wassermannschen Reaktion.

Von Dr. Vladimír Busila,

Abteilungsvorstand im Institut für Pathologie und Bakteriologie in Bukarest
(Prof. Babes).

Bei der Untersuchung einer bedeutenden Anzahl syphilitischer Sera — gleichzeitig nach dem von mir¹⁾ modifizierten Verfahren von Bauer-Hecht, sowie nach dem Verfahren von Wassermann, jedoch mit vorheriger Titrierung des hämolytischen Ambozeptors (nach dem Vorgange von mir, Hallion und Bauer) — ergaben sich häufige Diskordanzen in den Resultaten. Ziemlich oft liefert das Wassermannsche Verfahren ein negatives oder zweifelhaftes oder ein sehr schwach positives Resultat, während das Verfahren von Bauer-Hecht-Busila ein positives, sogar intensiv positives, Resultat ergibt.

Diese Diskordanz haben wir besonders in folgenden Gruppen von Fällen beobachtet:

- a) im Beginn der Krankheit;
- b) kurze Zeit nach einer längeren oder kürzeren Behandlung;
- c) bei inveterierten Syphilitikern, welche trotz ungenügender oder gar keiner Behandlung seit langem keine Krankheitserscheinungen gezeigt haben;
- d) in Fällen von konzeptioneller Syphilis;
- e) bei gewissen Heredo-Syphilitikern, die körperlich gut entwickelt waren und seit langer Zeit keine Anzeichen aktiver Syphilis aufgewiesen haben;
- f) bei gewissen Syphilisleiden der Nervenzentren (z. B. allgemeine Paralysis, Tabes u. a.).

Es tritt also diese Diskordanz besonders in Fällen von latenter Syphilis auf, in welchen oft die klinische Diagnose besonders schwer zu stellen ist. Um diese Widersprüche zu erklären, habe ich eine Reihe von Versuchen angestellt, deren Resultate ich hier kurz wiedergebe.

Der Hauptunterschied zwischen beiden Verfahren beruht auf der Tatsache, daß in dem einen inaktiviertes Serum verwendet wird, in

1) Busila, V., Une modification du procédé Bauer-Hecht. (Revista S. Med. 1910. No. 10; Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1910. No. 37.)

dem anderen aktives. Daraufhin habe ich angefangen, die Wirkung der Inaktivierung auf die betreffenden Sera zu studieren. Es wurden die betreffenden Sera noch nach einem dritten Verfahren behandelt, und zwar nach dem Wassermannschen, aber ohne vorherige Inaktivierung des Serums. Dieses ergab denn auch eine gewisse Anzahl positiver, sogar intensiv positiver, Fälle mehr, als der typische Wassermann; die Mehrzahl jedoch verblieb negativ. Diese negativen Resultate können nicht einem Ueberflusse an hämolytischem Ambozeptor zugeschrieben werden, weil ich immer vor der Anstellung der Reaktion den Titer des natürlichen hämolytischen Ambozeptors festgestellt habe; der künstliche Ambozeptor (Kaninchen, mit Hammelblut behandelt) wurde dann genau in der notwendigen Dosis hinzugefügt.

Man könnte auch an einen eventuellen Ueberfluß an Komplement denken, infolge der Summation des Meerschweinchenkomplements mit dem eigenen Komplement des Serums. Um mich dessen zu vergewissern, schritt ich zur Titrierung der Komplementmenge der Sera, wie ich es früher (l. c.) für das natürliche Hämolysin empfohlen hatte. Das Meerschweinchenkomplement konnte dann genau in der erforderlichen Menge hinzugesetzt werden.

Die Titrierung habe ich auf verschiedene Weisen ausgeführt. Eine derselben ist die folgende: Es wird zunächst, nach dem Prinzip von Busila, Hallion, Bauer, der natürliche, hämolytische Ambozeptor des inaktivierten Serums titriert, wie es ja auch für das Wassermannsche und im allgemeinen für das Bordet-Gengousche Verfahren erforderlich ist, wenn man präzise Resultate erzielen will. Hat man nun die Menge von Schaferythrocyten festgestellt, welche durch 0,1 ccm Serum gelöst werden, so wiederholt man die Titrierung mit derselben Menge von Erythrocyten und aktivem Serum desselben Kranken. Das Meerschweinchenkomplement wird dann in abnehmender Dosis hinzugesetzt (bis zu 0,05 ccm der 10-fachen Verdünnung). Der Unterschied der Komplementmenge, die in den beiden Fällen verbraucht wird, um dieselbe Quantität von roten Blutkörperchen zu lösen, zeigt die Komplementmenge an, die in 0,1 ccm Serum der untersuchten Person enthalten ist.

In der Tat habe ich mit diesem Verfahren festgestellt, daß in den oben erwähnten, negativen Fällen ein Ueberfluß an Komplement vorlag. Ich habe daraufhin bei der Untersuchung dieser und noch anderer Sera mit widersprechenden Resultaten mich des Verfahrens mit aktivem Serum bedient und dabei die Menge ihres Komplements berücksichtigt.

Nach demselben Verfahren wurde noch eine Anzahl syphilitischer Sera, welche nach den beiden ersten Methoden gleich stark oder gleich schwach fixiert hatten, und eine große Anzahl normaler Sera untersucht.

Die Ergebnisse sind folgende:

1) Nach Wassermann negative oder zweifelhafte, nach Bauer-Hecht-Busila positive Sera ergaben ein positives, manchmal recht intensives Resultat.

2) Nach Wassermann schwach positive, nach Bauer-Hecht-Busila stark positive Sera ergaben ein stark positives Resultat.

3) Nach den beiden ersten Verfahren gleich stark positive Sera ergaben ein gleich stark positives Resultat.

4) Die normalen Sera ergaben alle negative Resultate.

Daraus lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1) In einer Kategorie von Seris wird deren Fähigkeit zur Komplementfixierung durch Erwärmen auf 56° C vollkommen zerstört.

2) In einer anderen Kategorie geschieht dies nur teilweise.

3) In der 3. Kategorie wird die Komplementfixierungsfähigkeit durch Erwärmen durchaus nicht verringert.

Diese Resultate lassen sich auch auf folgende Weise ausdrücken:

In der 1. Kategorie von Fällen ist das „Reagin“ des syphilitischen Serums thermolabil; in der 2. teilweise thermostabil; in der 3. fehlt der thermolabile Körper ganz oder fast ganz; es ist bloß der thermostabile vorhanden.

Nach Gewinnung dieses Gesichtspunktes habe ich eine andere Reihe von Untersuchungen unternommen, in der Absicht, einen anderen Widerspruch, der bisweilen zwischen den gleichzeitigen Reaktionen zweier Flüssigkeiten desselben Individuums, und zwar der negativen Reaktion des Serums und der positiven des Liquor cerebro-spinalis (der letztere wird bekanntlich nicht inaktiviert), beobachtet wird, möglicherweise durch dieselben Faktoren aufzuklären.

Ich habe das Blut von 8 solchen Kranken nach meiner Methode untersucht. Bei 4 von diesen Kranken ergab die Untersuchung ein recht stark positives Resultat, beim 7. ein zweifelhaftes. Daraufhin habe ich Kontrolluntersuchungen des Liquors von 17 Kranken (wovon 6 der ebenerwähnten Serie angehörig) angestellt. Alle hatten nach der gebräuchlichen Methode (d. h. ohne Inaktivierung) ein sehr stark positives Resultat ergeben. Nach Erwärmung auf 56° hingegen wurde das Resultat in 13 Fällen schwach positiv, im letzten negativ.

Es ist also nicht zu bezweifeln, daß in der Mehrzahl der Fälle der Widerspruch in den Resultaten nur scheinbar ist. Das syphilitische „Reagin“ existiert auch im Blute, nicht nur im Liquor dieser Individuen, aber es ist thermolabiler Natur. Der Liquor selbst verliert durch Erhitzen auf 56° gewöhnlich teilweise, manchmal gänzlich, sein „Reagin“.

Es ergibt sich hieraus zugleich die Berechtigung, von thermolabilen und thermostabilen „Reaginen“ zu sprechen, und die relative Häufigkeit der Fälle mit nur thermolabilem „Reagin“ gestattet eine Interpretation aller der hervorgehobenen Diskordanzen. Die praktischen Konsequenzen liegen auf der Hand. Es sind gerade die klinisch schwierigen Fälle, z. B. von latenter Syphilis, welche in den Bereich der von mir modifizierten Methode fallen. Das typische Wassermannsche Verfahren läßt uns in diesen Fällen im Stich.

Die Verfahren, welche aktives Serum verwenden, werden hier unabweisbar. Von diesen Verfahren ist das verbreitetste und genaueste dasjenige von Bauer-Hecht-Busila. Da dasselbe jedoch die Gegenwart einer gewissen Menge natürlichen Hämolysins im Serum zur Voraussetzung hat, versagt es in den Fällen, in welchen dieses Hämolysin in ungenügender Menge oder gar nicht existiert. Das von mir empfohlene Verfahren ist in allen Fällen anwendbar.

Um es noch praktischer zu gestalten, führe ich jetzt die Titrierung des menschlichen Komplements gleichzeitig mit der Reaktion aus, wie aus dem Schema ersichtlich ist, welches den ersten Teil der Reaktion darstellt (siehe die Tabelle p. 282).

Es wird die Hauptgruppe der Röhrchen (bei mir: Serum und Serum + Antigen) vervielfältigt, um das Meerschweinchenkomplement in absteigender Menge hinzusetzen zu können, und zwar beginnt man mit der maximalen Quantität, welche durch die Titrierung dieses Komplements angegeben ist, und geht bis auf Null herab.

Der Rest der Operation, die Anlegung von Kontrollröhrchen, wird, wie im typischen Wassermannschen Verfahren, ausgeführt. Im Not-

No. der Röhren	Kochsalz-lösung 90%	Syphilitisches Leber-extrakt	Frisches, nicht inaktiviertes Serum des Kranken	Syphilitisches Serum	Normales Serum	Frishes Meerschwein-chenserum Verdünnung $\frac{1}{10}$		Hämo-lytischer Amboceptor	Hämeli-blutkörper-chen 5%
1	0,9	—	0,1			0,5 ¹⁾	Bei 38° nach 55—60 Min. (nicht mehr).	0,5 ²⁾	0,5
2	0,8	0,1	0,1			0,5		0	0,5
3	1,0	—	0,1			0,4		0	0,5
4	0,9	0,1	0,1			0,4		0	0,5
5	1,1	—	0,1			0,3		0	0,5
6	1,0	0,1	0,1			0,3		0	0,5
7	1,2	—	0,1			0,2		0	0,5
8	1,1	0,1	0,1			0,2		0	0,5
9	1,3	—	0,1			0,1		0	0,5
10	1,2	0,1	0,1			0,1		0	0,5
11	1,4	—	0,1			0		0	0,5
12	1,3	0,1	0,1			0		0	0,5

falle kann man sich mit 5 oder 4 Gruppen begnügen. Im Zwangsfalle — sehr geringe Menge von Serum z. B. — sogar mit 3 Gruppen.

Das gesuchte Resultat wird uns von derjenigen Gruppe von Röhren geliefert, welche mit der genauen Menge von Meerschweinchenkomplement beschickt worden waren. Man erkennt die Gruppen, welche nicht genügend Komplement erhalten haben, an der unvollkommenen Hämolyse im Kontrollröhrchen ohne Antigen³⁾.

Das Resultat fällt präziser aus, wenn die Reaktion am Tage der Blutentnahme ausgeführt wird.

Zusammenfassung.

a) Im Blute sowohl wie im Liquor cerebro-spinalis der Luetiker gibt es 2 „Reagine“, ein thermostabiles (30 Min. bei 56°) und ein thermolabiles.

b) Es können beide Körper nebeneinander vorhanden sein oder auch nur einer von ihnen.

c) Im ersteren Falle, der Koexistenz beider Substanzen, muß das Erwärmen die Intensität der positiven Reaktion schwächen.

d) Im Falle, wo der thermostabile Körper allein existiert, oder wenn er bedeutend vorherrscht, werden beide Verfahren — mit aktivem oder mit inaktiviertem Serum (oder Liquor) — ein genau gleiches Resultat ergeben.

e) Wenn der thermolabile Körper allein existiert, muß die Methode mit inaktiviertem Serum (oder Liquor) ein negatives Resultat ergeben.

f) Dieser Fall kommt oft vor, und zwar nach meinen Beobachtungen besonders oft in Fällen von latenter und Nervensyphilis. Die Methode mit inaktiviertem Serum versagt also gerade in diesen klinisch schwierigeren Fällen.

g) Die Verfahren, die sich des aktiven Serums bedienen, sind also in gewissen Fällen unerlässlich.

1) Variiert mit dem Titer des Meerschweinchenkomplements.

2) Variiert mit dem Hämolsintiter des untersuchten Serums.

3) Dasselbe muß dieselbe Menge von Serum (0,1 ccm) enthalten, wie das Röhrchen mit Serum + Antigen.

Von diesen Verfahren ist jedoch das bisher am besten ausgearbeitete, dasjenige von Bauer-Hecht-Busila, nicht anwendbar, wenn das Serum kein oder nur sehr wenig Hämolysin enthält.

h) Das einzige, allgemein anwendbare Verfahren mit aktivem Serum ist das von mir in dieser Arbeit empfohlene; es ist dadurch charakterisiert, daß dabei Meerschweinchenkomplement nur so viel, und insofern es vonnöten ist, eingeführt wird. Das menschliche Komplement kann auch gleichzeitig mit der Reaktion titriert werden. Infolgedessen dauert die Ausführung der ganzen Reaktion nicht länger, als bei dem Wassermannschen Verfahren.

Nachdruck verboten.

Ueber die Brauchbarkeit des normalen Drigalski-Conradi-Agar für die Dysenteriediagnose.

[Aus dem k. k. militärhygienischen Institut in Prag (Vorstand: O.-St.-A. Prof. O. Bail).]

Von Dr. **Hans Wollin**, k. k. Assist.-Arzt.

Die ziemlich allgemein verbreitete Anwendung des Drigalski-Agar ohne Kristallviolett für die Dysenteriebacillenkultur aus Dejekten hat den Nachteil, daß man — wie jetzt oft nötig — für die Erledigung der gleichzeitigen Frage, ob der Stuhl etwa Typhusbakterien enthält, daneben den normalen Nährboden anwenden, also die Arbeit verdoppeln muß. Außerdem¹⁾ wird wegen des üppigen Wachstums der Coli-Bakterien die Zahl der Kolonien auf der Platte eine große, was der Entwicklung der einzelnen Dysenteriekolonien abträglich ist. Die Empfehlung des Drigalski-Agar ohne Kristallviolett stützt sich auf den Umstand, daß der Shiga-Kruse-Typus durch Kristallviolettzusatz unterdrückt werde. Nun mag die Entwicklung dieses Typus hierdurch etwas behindert sein, indessen haben wir uns durch zahlreiche Stuhluntersuchungen überzeugt, daß von einer Unterdrückung keine Rede sein kann, ja wir sind nach anfänglicher Verwendung beider Nährböden nebeneinander bald dahin gekommen, dem normalen Drigalski-Agar dauernd den Vorzug zu geben. Es erschien uns der Nachteil des uneingeschränkten Saprophytenwachstums auf den kristallviolettfreien Substraten größer als der Vorteil, der durch Wegfall der Behinderung der Shiga-Kruse-Bacillen erzielt wird. Wie es mit letzteren bestellt ist, sollen einige Versuche zeigen.

Versuche.

Kleine Aussaat eines Gemisches von Coli- und Shiga-Kruse-Bacillen resp. von Coli- und Flexner-Bacillen. Zahl der Coli-Bacillen viel kleiner als die der Dysenteriebacillen. Aussaat in Agarplatten gezählt.

In Agarplatten gezählt, war das Verhältnis:	Auf Drigalski-Agar mit Kristallviolett:
Coli: Shiga = 1:6,27	1:7,1
Coli: Flexner = 1:20,00	1:12,5

1) Salus, G., Prag. med. Wochenschr. 1915. No. 2.

Hier war der Shiga-Bacillus sogar dem Flexner-Bacillus überlegen; die Größe der Kolonien betrug nach 24 Stunden bei beiden (Dm.) 3 mm, gegenüber 4 mm bei den Coli-Kolonien. Von einer Unterdrückung des Shiga-Kruse-Typus kann also nicht gesprochen werden.

In einem weiteren Versuche wurde die Einsaat der Coli-Keime größer gewählt als die der Shiga-Kruse-Bacillen.

Je eine Kolonie des *B. coli*, dysenteriae Flexner, dysenteriae Shiga-Kruse wird in 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben und hiervon weiter je 1 Oese mit 5 ccm Kochsalzlösung verdünnt (II).

Nach Mischung gleicher Mengen der Verdünnung II der Coli-Bacillen mit der Verdünnung II der Shiga-Kruse- bzw. Flexner-Bacillen wird je 1 Oese der Mischung auf Drigalski-Agar verschiedener Provenienz verteilt. Zählung der Aussaaten in Agarplatten.

	Aus 1 Oese der Verdünnung II wachsen in Agar Kolonien	Aus 2 Oesen der Mischung wachsen auf normalem Drigalski-Agar			
		A	Prozent der Aussaat	B	Prozent der Aussaat
Coli	700	234	33,4	134	19,2
Flexner	660	198	30,0	110	16,6
Coli	700	260	37,1	142	20,2
Shiga	260	106	40,7	38	14,8

Auf A waren die Coli-Kolonien nach 24 Stunden zu einer Größe von 2—2½ mm Dm. herangewachsen, die Flexner-Kolonien 1½ mm, Shiga-Kruse 1 mm; auf B waren Coli-Kolonien 1½—2, Flexner und Shiga-Kruse ½ mm groß. Die beiden Proben des normalen Drigalski-Agar hatten also offenbar ungleichen Gehalt an Nährstoffen; doch ist auf keinem von beiden die Behinderung des Shiga-Kruse-Typus wesentlich größer als die des Flexner-Typus, auf A sogar geringer als die Behinderung des Flexner- sowie des Coli-Bacillus; nur sind die Kolonien auf unserem Nährboden A etwas kleiner nach 24 Stunden.

Nehmen wir hierzu die an den zahlreichen diagnostischen Dejektuntersuchungen gewonnenen praktischen Erfahrungen, so erscheint der normale, für die Typhusdiagnose angegebene Drigalski-Conradi-Agar zur Ermittlung des Kruse-Shiga-Bacillus besser geeignet, als der ohne Kristallviolett hergestellte, besonders da die gleichzeitige Untersuchung auf Typhusbakterien dadurch gefördert wird.

Nachdruck verboten.

Ueber das Wachstum von Coli-Bakterien auf Lackmusmannitagar.

[Aus dem k. k. militärhygienischen Institut in Prag (Vorstand: O.-St.-A. Prof. O. Bail).]

Von Dr. **Hans Wolln**, k. k. Assist.-Arzt.

Bekanntlich wird für die Differentialdiagnose der Dysenteriebacillentypen die Vergärung verschiedener Kohlenstoffquellen angewendet; es ist schon wiederholt darauf hingewiesen worden, daß diese Unterscheidungsmerkmale keine dauernden sind, und selbst O. Lentz (1) gibt

an, daß man sie nur deshalb zur Differentialdiagnose der giftarmen Stämme benützen kann, weil sie in den ersten Dejektkulturen konstant sind. Daß man auf derartige Unterschiede eine naturwissenschaftliche Trennung nicht aufbauen kann, hat jüngst O. Bail (2) auf Grund seiner experimentellen Untersuchungen über Mutation von Choleravibrionen besonders betont.

In den Angaben über das Verhalten der Bacillen der Typhus-Coli-Gruppe auf den Zuckernährböden wird der Coli-Bacillus als auf Lackmusmannitagar blau und rot wachsend angeführt. Davon ausgehend, fanden wir zunächst bestätigt, daß eine Coli-Kolonie, auf obenerwähnten Agar von einer Drigalski-Platte übertragen, nach 24 und 48 Stunden untersucht, eine Anzahl blauer und roter Kolonien liefert, wobei das Vergärungsvermögen einiger der roten Kolonien so groß ist, daß in ihnen Gasblasen auftreten. Namentlich bei älteren Kulturen ist die Mannigfaltigkeit eine größere, während sich bei ganz jungen Kulturen nur wenige Abweichungen finden, was den Erfahrungen über Mutation gut entspricht. Wir legten uns nun die Frage vor, da das Mannit-säuerungsvermögen sonach offenbar eine inkonstante Eigenschaft ist, die innerhalb einer Kolonie einer Anzahl von Individuen eigen ist, vielleicht in recht verschiedenem Grade, anderen dagegen fehlt, ob die Individuen ihre Eigenschaft weitervererben, so daß die folgenden Kulturen aktiver wieder aktiv, passiver dagegen des Vergärungsvermögens bar erscheinen. Eine größere Versuchsreihe ergab, daß hierin gar keine Konstanz zu bestehen scheint, daß jedesmal eine weitere Aufspaltung erfolgt, derart, daß sowohl von rein blauen als von rein roten Kolonien blaue und rote abstammen. Außerdem fanden sich Uebergangsformen. Aus äußeren Gründen war es nicht möglich, die Versuche genügend weit zu führen und genügend viele Stämme von *B. coli* und anderen, sich ähnlich verhaltenden zu verfolgen, und es sei daher einstweilen nur eine kurze Versuchsreihe mitgeteilt:

Aus einer alten Schrägagarkultur eines ausführlich identifizierten *B. coli commune* wird eine Kochsalzaufschwemmung angelegt und davon eine Oese auf Lackmusmannitagar ausgestrichen. Die neue I. Generation auf diesem Substrat besteht aus 128 roten Kolonien, 3 roten, gasbildenden, 162 blauen. Die ersteren liegen teils vereinzelt, teils in einem breiten Bande. Die blauen bilden eine sehr dichte Gruppe, die von Kolonien umsäumt ist, deren zentraler Teil blau ist, während der periphere rot erscheint.

II. Generation. A. Eine identifizierte rote Kolonie, in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, davon eine Oese auf Lackmusmannitagar ausgesät: Es wächst ein großer, bläulicher Rasen, der sich am Rande in rote und bläuliche Kolonien auflöst, ferner 1 alleinstehende, blaue Kolonie (identifiziert) und 67 einzelne rote.

B. Aus einer blauen Kolonie wachsen in der Mitte der Platte dunkelblaue Kolonien in kleinen Gruppen, die sich am Rande in rote und blaue auflösen. Mitten zwischen den weniger dichtstehenden übrigen roten finden sich 32 blaue, bis 1 mm im Durchmesser haltende getrennte Kolonien. Daran schließt sich eine Kette von 15 dicht beieinander stehenden, blauen Kolonien, die mit einer leuchtend roten endet. Die Gesamtzahl der roten ist 483, ihr Durchmesser bis 1½ mm. Auch sie bilden oft Gruppen. Nirgends Gasbildung wahrnehmbar.

III. Generation. α) I. Gen. rot, II. Gen. rot . . . 1 Kolonie ausgesät. Lackmusagarplatte in gleicher Weise angelegt: Es wachsen darauf 2 kleine und 1 größere tiefblaue Kolonie ganz vereinzelt zwischen roten an verschiedenen Stellen der Platte; 62 bläuliche einzeln an verschiedenen Stellen; 372 hellrote, besonders groß und grellrot, wo sie in Gruppen stehen.

β) I. Gen. rot, II. Gen. blau . . . 1 Kolonie ausgesät.

Ergebnis: 25 tiefblaue, 32 bläuliche; 40 hellrote in 2 Gruppen, einer von zahlreicheren kleinen, einer zweiten von 8 bis 1½ mm großen. Die bläulichen Kolonien haben einen zackigen Rand.

γ) I. Gen. blau, II. Gen. rot.

Ein breiter, im Zentrum leerer Strich, daran anschließend dichtgedrängte blaue, in den Randteilen fast nur rote Kolonien. Außerdem vereinzelt 75 blaue, 98 rote.

δ) I. Gen. blau, II. Gen. blau.

Leuchtend rote Kolonien in 6 Gruppen von 6—22 und 1 Gruppe von 52 Kolonien. Eine weitere Gruppe besteht aus 15 schön blauen und zur anderen Hälfte aus 6 roten Kolonien. Ferner eine sehr dichte Gruppe blauer Kolonien, deren Rand rot und blau ist; eine größere, noch dichtere Gruppe ist im Zentrum blau, der Rand besteht zum größten Teil aus roten Kolonien, ein zungenförmiger Fortsatz löst sich an seinem Ende in lauter blaue, bis 1 mm große und 2 mm weit auseinanderstehende Kolonien auf.

Es wäre nun naheliegend, den Ursachen dieses Verhaltens nachzugehen, ob etwa zentral oder peripher liegende Anteile einer Kolonie sich verschieden verhalten — denn es ist auffallend, daß die blauen und roten Kolonien so oft in größeren Gruppen beisammen liegen; ferner, ob etwa die Färbung der Kolonie davon abhängt, daß nicht aktive und passive, sondern säuernde und alkalibildende Individuen darin vereint sind und die einen von ihnen in bezug auf die Intensität ihrer Wirkung überwiegen. Jedenfalls geht einstweilen so viel hervor, daß das Säuerungsvermögen der Coli-Bacillen in bezug auf Mannit ein fluktuierendes individuelles ist, das den einzelnen Keimen leicht verloren geht, aber auch — was bei einer aktiven Funktion besonders bemerkenswert ist — leicht wiedergewonnen wird. Es handelt sich also um eine Eigenschaft von untergeordneter Bedeutung für die naturwissenschaftliche Klassifikation, wohl auch bei allen anderen Bakterien.

Literatur.

- 1) Lentz, O., Dysenteriebacillen. (Kolle-Wassermann. 2. Aufl. 1913.)
- 2) Bail, O., dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd... 19.. p...

Nachdruck verboten.

Eine neue Methode der Bestimmung von Bakterienmengen.

[Aus dem Serotherapeutischen Institut in Krakau (Direktor: Prof. O. Bujwid).]

Von Prof. **Odo Bujwid**, k. k. Oberstabsarzt I. Klasse, Krakau.

Bei meinen Versuchen über die Bestimmung der Bakterienmenge in einer Kultur bin ich zu dem Schlusse gekommen, daß die bisher im Gebrauch stehenden Methoden wenig zuverlässig und oft mit größeren Fehlern behaftet sind. So kann z. B. der allgemein gebrauchte Begriff einer Normalöse sehr große Abweichungen darbieten. Bei vielen Versuchen ist es mir nur recht selten gelungen, 2 mg in einer Oese zu erhalten. Oft schwankte die Menge zwischen 2 und 6 mg. Dasselbe kommt vor bei der üblichen Zählung unter dem Mikroskope nach der Wrightschen Methode. Man muß schon eine sehr große Übung haben, um große Fehler zu vermeiden.

Seit 1 Jahre verwende ich bei der Zubereitung verschiedener Impfstoffe eine Methode, welche mir sehr gute Resultate leistet. Eine Schrägagarkultur wird auf einer empfindlichen chemisch-analytischen Wage gewogen. Von der Kulturoberfläche wird mit einem dünnen, gebogenen, am Ende zugeschmolzenen Glasröhrchen ein Kulturquantum

abgenommen, wonach die Kultur wieder rasch gewogen wird. Die Kulturmasse, die am Röhrchen haftet, welche nicht weniger als 5 mg und nicht mehr als 12 mg wiegen darf, was von den beiden Wiegungen zu berechnen ist und nach einer kurzen Uebung leicht geschieht, wird in einen kleinen Glaszylinder mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung oder 0,5-proz. Phenollösung gebracht (wenn es sich nachher um abgetötete Bakterien handelt) und zu einer gleichmäßigen Aufschwemmung geschüttelt. Die an der Oberfläche des Röhrchens haftende Bakterienmasse wird somit leicht in eine Aufschwemmung verwandelt, welche einen gewissen Grad „a“ von Trübung bildet. Nach diesem Standardtrübungsgrad „a“ ist es leicht, die an der Oberfläche des Nährbodens derselben Eprouvette übriggebliebene Kulturmenge „b“ nach dem Abspülen in Aufschwemmung zu bestimmen. Zu diesem Zwecke werden zu der übriggebliebenen Kulturmasse ins Röhrchen 2—3 ccm Abspüllösung zugegossen und mit demselben Röhrchen eine Aufschwemmung erzielt. Der sorgfältig abgospülte Bakterienrasen wird in einen kleinen Glaszylinder abgegossen, bis zu 4 oder 5 ccm genau mit der Abspüllösung vermennt und so die zu bestimmende Trübung „b“ hergestellt. Dann wird ein anderer, mit dem Zylinder „a“ in physischer Beschaffenheit identischer Zylinder „c“ mit 10 ccm der reinen Abspüllösung gefüllt.

Mittels einer zu $\frac{1}{100}$ geteilten 1 ccm-Pipette gießt man nun vorsichtig die Aufschwemmung „b“ in die reine Abspüllösung „c“ so lange, bis „c“, unter verschiedenen Lichtverhältnissen beobachtet (auf schwarzer Unterlage, im durchfallenden und reflektierten Licht, auf einem schwarzen Kreuz etc.), denselben Trübungsgrad zeigt, wie die Standardaufschwemmung „a“. Sodann wird auf der Pipette abgelesen, wieviel Milligramm Bakterienmasse die Aufschwemmung „b“ enthält.

Nehmen wir an, daß wir für die Herstellung der Standardaufschwemmung „a“ 10 mg von der ursprünglichen Bakterienmasse genommen haben, und daß es notwendig war, zur Erreichung desselben Trübungsgrades in „c“ 0,5 ccm von der Aufschwemmung „b“ zu entnehmen. so wird die Kulturmenge in „b“ nach der folgenden Proportion berechnet:

$$x : 10 = 4,0 : 0,5,$$

wenn die abgospülte Bakterienmasse in „b“ genau auf 4,0 ccm gebracht wurde, wovon

$$x = \frac{4,0 \cdot 10}{0,5} = 80 \text{ mg},$$

x der Kulturmenge in „b“ entspricht. Das Gewicht des genannten Bakterienrasens erhält man in der Weise, daß man zu der berechneten Masse in „b“ die früher zur Herstellung von „a“ genommene Menge addiert:

$$80 \text{ mg} + 10 \text{ mg} = 90 \text{ mg}.$$

In der Tat geschieht die ganze Berechnung in wenigen Minuten, und nach einer gewissen Uebung ist es leicht, einen größeren als 5—10 Proz. Fehler zu vermeiden. Es ist sicher, daß man mit dieser Methode nach weiterer Ausarbeitung den Fehler bis zu 5 Proz. reduzieren kann.

Da eine optische Methode immerhin von einer subjektiven Sehschärfe abhängig ist, so habe ich öfters die Berechnungen in verschiedener Beleuchtung und in verschiedenen Zylinderstellungen ausgeführt. Oefters habe ich auch zur Kontrolle meinen Assistenten Dr. St. Sierakowski zugezogen, um womöglich einen Subjektivitätsfehler zu ver-

meiden. Immerhin eignet sich diese Methode zur Bestimmung der Bakterienmenge viel besser, als die anderen bis jetzt angewendeten Methoden.

Die Fehlerquellen können bei dieser Methode von 2 Umständen abhängen: 1) einer unrichtigen Auswahl des Meßzylinders und 2) einem nicht rasch genug nacheinander folgenden Abwiegen der Kultur. Deshalb habe ich dazu immer 2 gleich dicke und weite (ca. 16–20 mm im Durchmesser), kurze Probierröhrchen verwendet, welche mit Teilstrichen versehen werden können (was aber nicht von Vorteil ist); dabei muß die Höhe der Flüssigkeitskolonnen möglichst genau dieselbe bleiben.

Bei dem Abwiegen ist es notwendig, von dem Wageschränkchen den üblichen Chlorkalk oder andere verwendete Trocknungsmittel zu entfernen, um den Verlust der Kulturfeuchtigkeit möglichst zu vermindern. Meistens verliert eine Schrägagarkultur in einem 18 mm weiten und 16–18 cm langen Probierröhrchen in 5 Minuten im Maximum 0,5 mg. Ein solcher Fehler kann unbeachtet bleiben. Anstatt Watte ist ein gewöhnlicher Pfropfen zu nehmen.

Mit Hilfe dieser Methode konnte ich eine Reihe ziemlich wichtiger Beobachtungen ausführen. Es ist z. B. leicht, die Bakterienmasse eines Probierröhrchens mit der zu vergleichen, welche auf einer Platte gewachsen ist; wieviel Nährboden zu einer Platte am besten zu verwenden ist; wie sich das Bakterienwachstum gegen verschiedene Nährböden verhält usw.

Auch bei der Bestimmung von Toxizität, des Agglutinations- und Sättigungskoeffizienten ist diese Methode von großer Bedeutung. Besonders ist sie für eine genaue quantitative Impfstoffbestimmung sehr empfehlenswert.

Inhalt.

- | | |
|--|--|
| Baerthlein, Karl , Beitrag zur Frage der Paragglutination, p. 272. | Pommer, Gustav , Bemerkungen zu E. Fraenkels Arbeit: „Ueber malignes Oedem“, in: Beitr. z. Klinik d. Infektionskrankh. und zur Immunitätsforsch., p. 249. |
| Bail, Oskar , Untersuchungen über die Veränderlichkeit von Choleravibrionen, p. 234. | Saul, E. , Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. XIX. Mitteilung, p. 255. |
| Bujwid, Odo , Eine neue Methode der Bestimmung von Bakterienmengen, p. 286. | Wollin, Hans , Ueber die Brauchbarkeit des normalen Drigalski-Conradi-Agar für die Dysenteriediagnose, p. 283. |
| Busila, Vladimir , Ein thermolabiler syphilitischer „Immunkörper“. Modifikation der Technik der Wassermannschen Reaktion, p. 279. | Wollin, Hans , Ueber das Wachstum von Coli-Bakterien auf Lackmusmannitagar, p. 284. |
| Carini, A. , Ueber die Hundekrankheit Nambi-uvu und ihren Parasiten, <i>Rangelia vitalii</i> , p. 265. | Zettnow, E. , Einige neue Bakterien p. 209. |
| Galli-Valerio, B. , Erfahrungen über den Schutz gegen den Läusestich, p. 262. | |

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 77. Heft 4.

Ausgegeben am 31. Januar 1916.

Nachdruck verboten.

Bakterienmutationen. Allogonie. Klonumbildungen.

Von Prof. Dr. Ernst Lehmann, Tübingen,

z. Z. Vorstand der bakteriologischen Untersuchungsstelle des Festungshauptlazarets Ulm.

Im Jahre 1901 erschien der 1. Band von de Vries' berühmter Mutationstheorie. Es wurde hier zum ersten Male das in der Naturgeschichte alte Wort „Mutation“, welches aber nach Johanssen (p. 636) in der Periode nach Darwins Origin of species sozusagen obsolet geworden war, auf die Sprungvariationen oder „single variations“ Darwins übertragen. Im Jahre 1906 wurde dieses Wort durch Neisser und Massini zuerst für gewisse Variationsvorgänge der Bakterien angewandt, womit dieselben eng an die Verhältnisse bei höheren Pflanzen angeschlossen wurden. „Wenn“, wie Eisenberg (1914, p. 28) sagt, „noch vor 4 Jahren ein namhafter Darsteller der Variabilitätsfrage darüber geklagt hat, daß die Bezeichnung Mutation sich auch in die Mikroorganismenforschung eingeschlichen hat, so müßte er heute schon von einer Invasion sprechen.“ Eisenbergs Liste von Arbeiten über Mutationen bei Bakterien und anderen Mikroorganismen aus dem Jahre 1914 weist 294 Nummern auf. Seitdem ist die Anzahl noch weiter nicht unbeträchtlich gewachsen. Es ist nun heute kein Zweifel mehr, daß Bakterien unter bestimmten Bedingungen Eigenschaften annehmen können, die sie vorher nicht besaßen, und daß sie diese neuen Eigenschaften dann auch dauernd — manchmal durch Jahre — auf ihre Nachkommen übertragen können, wenn auch keineswegs etwa alle Beobachtungen über „Bakterienmutationen“ diesen Anforderungen entsprechen. Die Tatsache an sich aber, auf welche der Nachdruck gelegt wurde, ist nicht mehr zu bezweifeln. Sie war es schon seit Beneckes (1909, p. 215) erstmaliger Untersuchung der Verhältnisse nach Burris Tuscheverfahren mit einem Einzelbakterium als Ausgangsindividuum nicht mehr.

Ganz anders steht es mit der theoretischen Deutung dieses Vorganges. Auch hierüber liegt schon vielerlei vor. Man findet es ebenso wie die Einzeldaten über „Bakterienmutationen“, auf welche hier nicht zurückgekommen werden soll, bei Eisenberg (1914) zusammengestellt. Von der einen Seite wird energisch für den Ausdruck Mutation bei Bakterien eingetreten, von anderer dagegen wird er abgelehnt. In den meisten Fällen wird in der Neuzeit mit gewissen Reserven die Bezeichnung Mutation für die Bakterien aufrecht erhalten, so auch von Beijerinck, Eisenberg, Toenniessen etc. Von einzelnen (Jollos, Reichenbach, Baur, Bernhardt) wird das, was wir jetzt „Bakterienmutationen“ nennen in 2 Kategorien eingeteilt und nur für eine die Bezeichnung Mutation beibehalten. Wir werden bald eingehend darauf zu sprechen kommen müssen. Jedenfalls liegt hier der weiteste Fortschritt vor. In all diesen Arbeiten scheint mir aber die Frage immer noch nicht genügend bei der Wurzel gepackt und bis in die äußersten Konsequenzen durchgeführt zu sein. Alle die Arbeiten über Bakterienmutationen zeigen bis in die neueste Zeit ein ungeheures Schwanken in den Anschauungen über Vererbung. Die rechte, klare Stellung der „Bakterienmutationen“ zu dem ganzen Gebäude der Vererbungslehre ist jedoch sowohl für das fernere Studium der „Bakterienmutationen“ selbst, als in gewissem Sinne

auch für die Fortschritte der Vererbungslehre von großer Bedeutung. Nicht zuletzt ist, wie Bernhardt (1915, p. 246) sagt, „die Kenntnis der Variabilität der verschiedenen Mikroorganismen von Wert für das Verständnis allgemeiner pathologischer Fragen“, z. B. Paratyphus. Ich möchte deshalb vom Standpunkt der botanischen Vererbungslehre versuchen, an welche der Ausdruck Mutation ja direkt anknüpft, die rechten Grundlagen für die Anschauung der „Bakterienmutationen“, konsequent von Anfang bis zum Ende in aller Kürze durchzuführen.

Daß wir heute auf dem Gebiete der „Bakterienmutationen“ noch keine durchaus übereinstimmenden Anschauungen haben, das ist meines Erachtens sehr wenig verwunderlich. Nirgends wird es der Wissenschaft scheinbar schwerer, die Pfade der Spekulation zu verlassen und sich fest auf den sicheren Boden des Experimentes zu stellen, als auf dem Gebiete der Entwicklungslehre. Mehr als ein Jahrhundert hindurch hat man versucht, die Entwicklung der Organismen durch philosophische Betrachtungen zu entschleiern. Jahrzehntlang ist man an den Mendelschen Versuchen achtlos vorübergegangen und hat statt ihrer Theorie auf Theorie gehäuft. Zagend ist das Experiment herangezogen worden, und erst mit dem Jahre 1900 feiert die experimentelle Entwicklungslehre ihre wahre Geburtsstunde. Aber auch heute noch, wo anderthalb Jahrzehnt rastloser Tätigkeit verstrichen sind und bewunderungswürdige Fortschritte erzielt wurden, hat man sich noch immer nicht völlig an den neuen Kurs gewöhnt. Das Ziel ist zu verlockend, und so versucht man immer wieder Flüge in phantastische Höhen, um dann gar bald in kläglichem Zustande wieder am Boden zu landen. Wir können uns noch kaum vorstellen, daß wirklich durchaus exakte Methoden an dieses höchste Problem der Naturwissenschaft angelegt werden können, und daß nur dann etwas bewiesen ist, wenn der sichere Versuch den Beweis geführt hat. Das gilt, wie wir sehen werden, noch heute, wenn auch in allerneuester Zeit schon in etwas beschränkterem Maße, für die „Bakterienmutationen“.

Ich möchte nun von vornherein betonen, daß meine folgenden Ausführungen sich nur an diejenigen Forscher richten, ja nur für die überhaupt mit irgendeinem Zweck lesenswert sind, welche schrittweise auf unserem heute experimentell erarbeiteten Gebiete der Genenlehre weiterarbeiten wollen. Ich habe meine freie Stellung dieser Lehre gegenüber in der Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre Bd. 13. 1914. p. 161 ff. klargelegt. Ich habe dort meiner Ueberzeugung Raum gegeben, daß die Genenlehre in ihrer heutigen Fassung noch nicht das letzte Ziel bedeutet, und daß sich höhere Einheiten finden werden, von denen der Mendelismus ein Spezialfall ist. Ueberspringen läßt sich aber diese Theorie heute ebensowenig, wie die atomistische Theorie in Chemie und Physik, trotz aller Weiterungen auch dieser in der Neuzeit. Die Genenlehre auf Grund Mendelscher Kreuzung ist heute noch immer das einzig wirklich Feste im ganzen Gebäude der experimentellen Vererbungs- und Entwicklungslehre. Und wenn auch, wie wir sehen werden, die Genenlehre heute noch keine „direkte“ Beziehung zu den Bakterien hat, so nötigt uns doch die Einheitlichkeit des natürlichen Systems gleichartige Gesetze bezüglich der Variabilität in allen Abteilungen desselben vorauszusetzen (Beijerinck).

Um auch in der Bakteriologie die rechte Stellung zu der experimentellen Vererbungslehre zu gewinnen, fragen wir uns zuerst am besten: Was hat uns die Mendelsche Genenlehre gebracht? Schon vor dem Auftreten Mendels und seiner Wiederentdeckung war in den Köpfen der verschiedensten Forscher die Ueberzeugung gereift, daß in den Organismen distinkte Träger der Vererbung vorhanden seien. Die Bezeichnung dieser Träger wechselt zwar erheblich; auch die Vorstellungen, welche die verschiedenen Autoren mit diesen Trägern verbanden, waren sehr wechselnd. Etwas ist aber überall dasselbe, ob es sich nun um Pangene (Darwin, de Vries), Idioplasma (Naegeli), Determinanten (Weismann), Dominanten (Reinke), spezifische Struktur (Klebs), Anlagen (Hertwig), Faktoren (Plate) etc. handelt. In allen Fällen hatten die Autoren wohl das Vorhandensein solcher distinkter Träger im Organismus empfunden, in keinem Falle aber konnte ein Beweis für ihre Anwesenheit erbracht werden, der die allgemeine Anerkennung hätte nach sich ziehen müssen. Der erste solche Beweis, daß etwas, uns allerdings noch völlig Rätselhaftes, den Vererbungstatsachen zugrunde liegendes Distinktes, ein Erbfaktor, vorhanden ist, wurde durch die Mendelschen Regeln erbracht. Für diese Erbfaktoren wurde der Ausdruck Gen von Johannsen in die Vererbungslehre eingeführt. Auf dieser Genenlehre fußt der heute so gewaltige Fortschritt der gesamten Vererbungslehre. Wenn wir also den Begriff des Gens mit demjenigen aller früheren Bezeichnungen für Erbfaktoren vergleichen, so ergibt sich der prinzipielle Unterschied: das Gen ist ein experimentell begründeter auf Zahlenverhältnisse zurückführbarer Begriff, alle anderen ähnlichen früheren Vorstellungen beruhen mehr oder weniger auf Spekulation.

Wenn man von „Bakterienmutationen“ spricht, fügt man zur Festlegung des Begriffes in der Regel dazu: im Sinne von de Vries. Wir werden uns demnach zuerst darüber klar werden müssen: Was sind Mutationen im Sinne von de Vries? de Vries beginnt sein Werk: Die Mutationstheorie, mit folgendem Satze: „Als Mutationstheorie bezeichne ich den Satz, daß die Eigenschaften der Organismen aus scharf voneinander unterschiedenen Einheiten aufgebaut sind. Diese Einheiten können zu Gruppen verbunden sein, und in verwandten Arten kehren dieselben Einheiten und Gruppen wieder. Uebergänge, wie sie uns die äußeren Formen der Pflanzen und Tiere so zahlreich darbieten, gibt es aber zwischen diesen Einheiten ebensowenig, wie zwischen den Molekülen der Chemie.“ Die Mutationstheorie steht also auf der Grundlage, daß die einzelnen Organismen aus scharf unterschiedenen Einheiten aufgebaut sind. Damit knüpft de Vries an Darwins und seine eigene Pangenesislehre an und findet in Mendels Genenlehre eine willkommene Bestätigung. Eine einzelne Mutation besteht nun in einer Veränderung einer solchen Einheit, die nicht auf Bastardierung zurückzuführen ist, und welche äußerlich eine Veränderung der Beschaffenheit des betroffenen Organismus in einem oder mehreren Merkmalen nach sich zieht.

de Vries hatte dann mit einer solchen Mutation noch weitere notwendige Charaktere verbunden: Sie mußte vor allem sprunghaft und plötzlich geschehen, sie mußte zu einer erheblichen Veränderung führen; die Mutationen sollten richtungslos verlaufen und aus

inneren Gründen auftreten. All diese letztgenannten Charakteristika gelten heute nicht mehr als notwendige Wesensbestandteile der „Mutationen“. Es ist deshalb auch heute nicht mehr nötig, für die „Bakterienmutationen“ diese Charakteristika heranzuziehen. Es werden also beispielsweise die Einwendungen Burris und Pringsheims (p. 7) gegen den Mutationscharakter der „Bakterienmutationen“, die vor allem das schrittweise und nicht plötzliche Auftreten mancher solcher „Mutationen“ betonen, hinfällig. Ebenso Reichenbachs Betonung des Richtungslosen verliert als Einwand die Bedeutung. Das Gleiche gilt für folgende Einwendungen Pringsheims (p. 7) gegen die „Bakterienmutationen“; er sagt: „Weiterhin sind Mutationen bei höheren Pflanzen vornehmlich morphologischer Natur. Das sprungweise Auftreten neuer morphologischer Eigenschaften wird bei niederen Organismen mit ihrer beschränkten Formenausbildung überhaupt nur schwer aufzufinden sein... Wir sind nicht berechtigt, so geringe Abweichungen vom Artcharakter, die sich nur in einer morphologischen Richtung äußerten, und die wohl noch innerhalb der natürlichen Variationsbreite der Mikroorganismenspecies liegen, als Mutationen zu bezeichnen.“ Oder p. 8: „Mit Mutation darf jedenfalls nur eine aus innerer und unbekannter Ursache hervorgehende Abänderung bezeichnet werden.“

Alle diese hier genannten Charaktere der „Mutationen“ haben sich im Laufe der Zeit als unwesentlich herausgestellt und brauchen heute zur Widerlegung der Bakterienmutationen nicht mehr herangezogen zu werden.

Im Laufe der Jahre sind wir jetzt zu folgender Definition der „Mutationen im Sinne von de Vries“ gekommen, welche sich allerdings von der de Vriesschen Auffassung schon recht wesentlich unterscheidet und von Baur (II, p. 258) folgendermaßen in Worte gekleidet wird: „Unter einer Mutation wollen wir ausschließlich die Erscheinung verstehen, daß aus irgendwelchen, meist unbekannten Ursachen die Nachkommen eines Elters oder Elternpaares neue erbliche Eigenschaften, d. h. eine andere Reaktionsweise auf die Außenwirkungen aufweisen, als die Eltern, wobei die neuen Eigenschaften nicht bloß auf einer Neukombination von mendelnden Grundunterschieden bestehen“, oder aber: „Eine Mutation ist eine Aenderung des Idioplasmas, die auf etwas anderem als auf einer Neukombination mendelnder Grundunterschiede beruht.“

Hierzu scheint es mir zweckmäßig, das folgende zu bemerken: Trotz der besonders exakten Fassung von Baur's Buch ist die zweite Definition meiner Meinung nach noch zu theoretisch. Mit der Einführung des Wortes Idioplasma, die auch mir anfangs sehr einladend erschien (vgl. mein Referat in der Zeitschrift „Die Naturwissenschaften“. 1915), begibt sich nämlich Baur der experimentell exakten Definition und erhebt sich auch seinerseits wohl etwas zu hoch über den Boden des Experiments. Denn wir können heute sicher noch nicht Idioplasma in seinem ganzen Umfange auf Gen übertragen. Wir werden ja sehr bald sehen, daß wir bei Bakterien von Genen noch durchaus nichts wissen, Idioplasma aber werden wir mit Naegeli natürlich bei den Bakterien auch annehmen müssen. Wollen wir aber, nach dem heutigen experimentellen Sinne, eine „Mutation“ recht definieren, so müssen wir dies wohl folgendermaßen tun: Eine Mutation ist die Aenderung eines Gens, wobei die Veränderung nicht durch Kombina-

tion, d. h. also durch Umgruppierung oder Aufeinanderwirkung von verschiedenen Genen zustande kommt. Durch diese Definition wird der Mutationsbegriff praktisch sehr eingengt, da die Veränderung eines Gens festzustellen nur in einem genotypisch genau bekannten Organismus möglich ist. Ja, es wird so zweifellos sehr schwer, eine einwandfreie „Mutation“ sicher aufzudecken, besonders wenn wir uns noch daran erinnern, daß vermeintliche reine Linien noch recht heterozygot sein können¹⁾. Definieren wir aber nicht in dieser scharfen Weise, so beginnt sofort wieder alles zu schweben.

Es ist nun an dieser Stelle durchaus nicht meine Aufgabe, an der Hand dieser Definition die bisher beschriebenen Fälle von „Mutationen“ bei Bakterien oder gar bei höheren Pflanzen und Tieren einer Kritik zu unterziehen. Wir beschränken uns vielmehr durchaus auf die Frage:

In welchem Verhältnis stehen die „Bakterienmutationen“ zu unserer „Mutationsdefinition“? Schon in seinem bekannten Referat über die Reiner Müllerschen Arbeiten (1909. p. 217) hatte Benecke bei Besprechung der Zulässigkeit einer Uebertragung des Begriffes der „Mutation“ von den höheren Pflanzen auf die Mikrowelt Johannsens Satz aus den Elementen, I. p. 345 herangezogen, „daß die vegetative Vermehrung der einzelligen Organismen nicht unmittelbar mit der Vermehrung der höheren Pflanzen durch Gameten verglichen werden darf“. Dennoch ist Benecke der Meinung, daß — sofern man diesen und einige andere Unterschiede im Auge behält — man immerhin diese stoßweise erfolgenden und erblich sich übertragenden Veränderungen der Spaltpilze als Mutationen bezeichnen kann, wenigstens vorläufig, bis vielleicht eine genauere Untersuchung des Vorganges uns eines Besseren belehrt. Diesen Standpunkt vertritt Benecke auch noch 1912 in seinem „Bau und Leben der Bakterien“.

Viel schärfer geht 1910 H. Pringsheim vor. Er schreibt auf p. 6: „Wir sind jedoch der Meinung, daß die Bezeichnung Mutation bei niederen Organismen nicht gebraucht werden sollte. Einmal ist sie speziell für die auf sexuellem Wege vererblichen Variationen geschaffen. . . .“ Diese Anschauung spricht sich in wachsendem Maße in der neueren Literatur aus (Jollos, Eisenberg, Baur, Bernhardt etc.), wenngleich noch nirgends allseits die letzten Konsequenzen aus dieser Erkenntnis gezogen wurden. Ich möchte nun zuerst beweisen, daß wir, falls wir zur weiteren Klarheit in dem sogenannten Mutationsproblem einerseits, in der Frage der „Bakterienmutationen“ andererseits kommen wollen, den Ausdruck Mutation bei Bakterien, wie bei allen anderen Organismen, bei denen eine Kontrolle durch Bastardierung unmöglich ist, fallen lassen und durch einen anderen Ausdruck ersetzen müssen, bis wir Gene auf andere Weise als durch Bastardierung, dann auch bei den Bakterien etc., herausarbeiten können.

1) Ich habe im Biol. Centralbl. 1914 darauf hingewiesen, daß unsere derzeit zur Anwendung kommenden reinen Linien noch hochgradig heterozygot sein können. Lotsy (Biol. Centralbl. p. 616) hat recht, wenn er betont, es sei eine *contradictio in terminis*, wenn ich sage: „Reine Linien können ja noch hochgradig heterozygotisch sein“. Da Johannsen reine Linien als den Inbegriff aller Individuen definiert, die von einem einzelnen, absolut selbstbefruchtenden homozygotischen Individuum abstammen, kann eine ideale reine Linie nicht mehr heterozygotisch sein; um so wichtiger ist es, daß wir uns darüber klar sind, daß unsere praktischen reinen Linien sehr häufig heterozygot sind (vgl. dazu meine Entgegnung im Biolog. Centralbl. 1916).

Wenden wir uns nun erst noch einmal zur näheren Betrachtung dessen, was wir unter Genen zu verstehen haben. Johannessens sagt 1913. p. 144: „Als konstitutionelle Elemente jeder einzelnen Gamete treten besondere, unter Umständen voneinander trennbare ‚Gene‘ auf, welche die Realisation verschiedener Eigenschaften ermöglichen.“ Der Sitz der Gene liegt also in den Gameten. Das ist theoretisch. Die Gene selbst aber sind experimentell durch die Mendelschen Bastardierungsuntersuchungen erschlossen. Wir können heutzutage schon in „gewissem Sinne“ ähnlich mit Genen rechnen, wie mit Molekülen in der Chemie (vgl. dazu Lehmann. 1914. p. 61 ff.). Es ist aber scharf zu betonen: Wir können zwar bei allen Lebewesen hypothetisch Gene annehmen; wir tun dabei aber gar nichts anderes als entrücken die Gene aus der experimentellen Klarheit wieder in die nebelhaften Fernen der Theorie — der Ausdruck Gen wird dann ganz überflüssig, wir können ihn dann einfach durch Idioplasma ersetzen. Experimentell aber können wir Gene bisher nur durch Bastardierung herausarbeiten, also nur bei sexuell differenzierten Organismen mit Gametenbildung. Wenn Eisenberg p. 31 davon spricht, daß die Genenanalyse vorzugsweise¹⁾ auf Kreuzungsversuchen beruht, so kann ich mir das nur so erklären, daß Eisenberg hierbei an Nebenbedingungen denkt, welche neben der Bastardierung zu berücksichtigen sind. Ohne Bastardierung aber gibt es heute keine Genenanalyse. Wenn Beijerinck (1912. p. 22) z. B. bei *Bacillus prodigiosus* Gene auf anderem Wege zu erschließen sucht, so kann dieser Weg nur sehr näherungsweise zum Ziele führen. Wollen wir also auf experimenteller Basis bleiben, so können wir eben von Genen derzeit nur bei sexuell differenzierten Wesen sprechen. Wenn wir äußere Eigenschaften sich ändern sehen, so wissen wir ja durchaus nicht, ob sich diese Änderung auf den Genotypus oder den Phaenotypus bezieht (vgl. dazu Johannessens, Eisenberg, p. 32). Das wird von besonderer Bedeutung, da, wie wir noch sehen werden, offenbar auch der Phaenotypus bei nicht sexueller, sondern vegetativer Fortpflanzung durch sehr viele Teilungs- und Fortpflanzungsstufen dauernd verändert bleiben kann. Da wir aber eine Veränderung des Genotypus und damit der einzelnen Gene bei asexueller Fortpflanzung folgerichtig nicht feststellen können, weil wir ja eben da gar nichts von Genen wissen, so können wir schon aus diesem Grunde bei Bakterien auch nicht von einer Mutation im Sinne unserer Definition sprechen, denn sofort sind wir wieder losgelöst von der Basis des Experiments (vgl. auch Bernhardt. 1915. p. 242 ff.).

Die Sache wird aber noch viel klarer, wenn wir uns das Folgende überlegen, worauf schon verschiedentlich von anderer Seite hingewiesen wurde. Die moderne Vererbungslehre ist sich seit Johannessens Begründung der reinen Linie darüber klar, daß man von Mutationen nur innerhalb reiner Linien sprechen kann. Eine reine Linie ist aber nach Johannessens, 1913. p. 154, der Inbegriff aller Individuen, welche von einem absolut selbstbefruchtenden, homozygotischen Individuum abstammen. Reine Linien kann es also nur dort geben, wo es Gameten gibt. Dies ist von Webber, Shull und Johannessens p. 199—200 klar auseinandergesetzt worden. Auch in der rein bakteriologischen Literatur finden sich hier und da Hinweise darauf (vgl. Beijerinck. 1912. p. 107 Anm.), wenngleich die Sache bis in die neueste Zeit sehr vielfach unbeachtet bleibt. Z. B. schreibt noch Toenniessen, Ueber Vererbung und Varia-

1) Von mir gesperrt.

bilität bei Bakterien (Biol. Centralbl. 1915. p. 284): „Bei Bakterien erhalten wir erblich einheitliches Material relativ einfach dadurch, daß wir uns eine Reinkultur herstellen. Dies gelingt durch das Burrische Tuscheverfahren oder mit genügender Sicherheit durch wiederholte Plattenisolationen (Eisenberg, Baerthlein). Eine solche Kultur entspricht dem von Johannsen aufgestellten Begriff der ‚reinen Linie‘“. Und Bernhardt (1915. p. 241) sagt: „Es sei gleich hier bemerkt, daß wir bei all unseren Versuchen stets mit reinen Linien gearbeitet haben.“ Bei Bakterien können wir aber derzeit überhaupt nicht von reinen Linien sprechen. Vegetative Abkommen eines Individuums bieten durchaus keine Garantie einer homozygotischen Natur für die betreffenden Individuen. Von Webber und später von den anderen genannten Autoren wurde deshalb für die asexuell gebildete Deszendenz eines einzelnen Individuums der Ausdruck Klon eingeführt. In der hiermit gegebenen Definition führt allerdings das Wort Klon noch zu mancherlei Mißlichkeiten. Die asexuell gebildete Deszendenz eines einzelnen Individuums kann über kurz oder lang, beispielsweise durch wiederholt in einem Bakterienklon auftretende „Mutation“, so verschiedenartig werden, daß der Ausdruck Klon dann seinen Einheitswert verliert. Einen solchen muß der Ausdruck aber behalten. Man sollte demnach nur solange — in Parallele zur reinen Linie — von einem Klon sprechen, als die Deszendenz eines einzelnen Individuums eine einheitliche Reaktionsweise auf die Außenwirkungen aufweist. Abweichungen dieser Reaktionsweise sind dann Ausgangspunkte neuer Klone oder „klonial“ entstandener neuer Formen, die dann ihrerseits mehr oder weniger beständig sein können und gegen einfache Modifikationen nicht scharf begrenzt sind. Ein so definierter Klon kann aber trotz aller einheitlichen Reaktionen auf die Außenwirkungen noch hochgradig heterozygotisch sein, auch wenn er sich äußerlich völlig gleich bleibt. Eine einzige Bastardierung enthüllt dann die komplexe Beschaffenheit eines solchen Stammes. Wir können demnach bei Klonen überhaupt nichts über die genotypische, erbliche Zusammensetzung aussagen. Daraus folgt aber einerseits weiter, daß wir bei Bakterien derzeit überhaupt nichts über Vererbungserscheinungen auf genotypischer Grundlage, wie wir es bei höheren Pflanzen ausschließlich zu tun pflegen, wenn wir über Vererbung sprechen, aussagen können. Andererseits ergibt sich auch auf diese Weise, daß wir von Mutationen bei Bakterien nicht sprechen können, denn wir haben ja im Klon nicht das genotypisch einheitliche, reine Ausgangsmaterial. Diese Beweisführung ist von einigen Autoren schon ähnlich geführt worden, merkwürdigerweise aber immer, sogar bei Jollos und Bernhardt, ohne die letzte Konsequenz, die eben darin besteht, das Wort Mutation bei Bakterien vollkommen fallen zu lassen. Auch bei ihnen öffnet sich eine unerlaubte Hintertür, durch die das Wort höchst unerwartet (Jollos, 1913. p. 235) oder zaghaft (Bernhardt, 1915. p. 245) wieder eintritt, wozu bei Bernhardt noch die unklare Stellung der reinen Linie gegenüber kommt. Wir werden noch darauf zu sprechen kommen.

Sind wir aber nun zu der Ueberzeugung gekommen, daß das Wort „Mutation“ bei allen sexuell nicht kontrollierbaren Neubildungen auszurollen ist, so fragt es sich: wie sollen wir nun das auffassen und benennen, was bisher als Bakterienmutation bezeichnet wurde? Eins ist klar — und ich werde das im folgenden noch schärfer herauszuheben mich bestreben — auch wenn wir durchaus nicht wüßten, was wir mit den „Bakterienmutationen“ tun sollten, Mutationen werden wir sie nicht mehr nennen können, jedenfalls nicht, sofern wir das Wort Mutation in irgendetwelchem bestimmten Sinne fassen wollen. Beijerinck hatte ursprünglich zu wiederholten Malen (1895, 1900, 1905, 1910) für die Variabilitätserscheinungen der Mikroorganismen die Worte „Variation bzw. Variant“ einführen wollen und statt Mutation angewandt. Aus praktischen Rücksichten ließ er diese Bezeichnung aber 1912 fallen. Mir erscheint der Name Variation für den hier zu besprechenden Vorgang zu allgemein, da er Dinge einschließt, die hier sicher nicht in Frage kommen, beispielsweise Variation nach Bastardierung. Pringsheim schlägt für die Abänderungen bei Bakterien etc. (p. 6) den Ausdruck Fluktuationen vor. Derselbe ist aber unglücklich, da er sich leicht mit fluktuierender Variabilität verwechseln läßt. Es ist darum unzweckmäßig, diesen Namen wieder in allgemeinerem Sinne anzuwenden. Zudem faßt fast jeder Autor, der diesen Ausdruck anwendet (Toennissen, Beijerinck, Pringsheim, Bernhardt) denselben schon wieder etwas anders auf. Warum wir aber für die auf Grund äußerer Faktoren hervorrufbaren Variationen neue Namen, wie Adaptionen oder Akkommodationen, einführen sollen, wo doch dafür der alte Naegeli'sche Ausdruck Modifikation vorliegt, ist mir nicht recht ersichtlich, zumal für diese Namen keine scharf umrissenen, durch bestimmte Kriterien gestützten, neue Begriffe vorhanden sind. Wir werden alle diese Namen deshalb vermeiden und im Rahmen des Bisherigen ganz allgemein für dauernde Abänderungen von Klonen den Namen Klonumbildungen anwenden. Der Name Transformation ist wieder in speziellen Sinne bei den Mikroorganismenformen angewandt worden (Hansen) und deshalb hier nicht brauchbar.

Diese Klonumbildungen oder Bildungen neuer Klone unterscheiden sich von den gewöhnlichen Modifikationen dadurch, daß die neu erworbenen Veränderungen, unter abweichende bzw. normale Bedingungen zurückversetzt, nicht sofort wieder verloren gehen, sondern bestehenbleiben. Wir werden allerdings erkennen, daß die Trennung gegenüber den Modifikationen nicht scharf sein kann. Der Name hat aber den besonderen Vorzug, daß er über das Wesen der Neubildung weiter gar nichts aussagt, als daß es sich um eine dauernde Veränderung handelt, denn ein Klon besteht ja aus der gesamten phänotypisch einheitlichen vegetativen Deszendenz eines Individuums. Vor allem aber sagt er nichts über die genotypische Beschaffenheit aus, was ja durchaus zu vermeiden wäre, da wir über diese nichts wissen. Es wird dann die weitere Aufgabe sein, soweit das möglich ist, zu untersuchen, worin diese Klonumbildungen ihrem Wesen nach bestehen. Diese Frage hat nun, mit ganz ausgezeichnetem Erfolge, Jollos in den letzten Jahren bei Infusorien zu bearbeiten begonnen. Ehe wir uns der Behandlung dieser Untersuchungen aber zuwenden, sei in Kürze auf einige Uebergangsvorgänge hingewiesen, welche uns dann zu den Jollosschen Ergebnissen überleiten werden.

Der Naegeli'sche Begriff der Modifikation ist in der modernen

Vererbungsliteratur genugsam erörtert worden. Man spricht von Modifikationen, wenn Eigenschaften von Organismen vorübergehend durch äußere Faktoren verändert werden. Wenn der äußere Einfluß verschwindet, ist auch die Veränderung vorüber. Baur führt nun in seinem Lehrbuch aus, wie solche äußere Bedingungen, besonders bei niederen Organismen, auch noch durch einige Generationen nachwirken können. Ganz besonders interessierende Beispiele werden mitgeteilt. Das erste bezieht sich auf *Paramecium*; die Versuche wurden von Jennings ausgeführt. „Er fand unter anderem in seinen Kulturen ein Individuum, das einen eigentümlichen hornförmigen Fortsatz aufwies. Bei der Teilung dieses Individuums erhielt nur die eine Tochterzelle dieses Horn, die andere war völlig normal und hatte auch weiterhin eine völlig normale, hornlose Nachkommenschaft. Die andere Tochterzelle, die das Horn mitbekommen hatte, fing an, es zurückzubilden, aber auch als sie schon zur nächsten Teilung schritt, war das Horn noch vorhanden, und erst nach 5 Teilungen war es zurückgebildet. Wir haben hier also den Fall, daß eine Modifikation — das Horn — die aus nicht näher bekannten Ursachen (Verletzung oder ähnliches) entstanden war, unter veränderten (d. h. hier wieder normalen) Kulturbedingungen wieder verschwand, aber die Zellteilungsfolge ist hier so rasch, daß bis zur völligen Ausgleichung der Modifikation bereits 5 Teilungen erfolgt sind. In anderen Fällen ging die Rückbildung eines solchen Horns noch langsamer — nach 22 Teilungen — vonstatten. Eine im wesentlichen analoge Nachwirkung einer Modifikation ist leicht bei *Bacillus prodigiosus* zu beobachten. Kultiviert man diesen auf einem reichlich stärkehaltigen Substrat bei Zimmertemperatur, so bildet er seinen roten Farbstoff, bei 30—35° hingegen wächst er weiß. Bringt man eine solche farblose Wärmekultur in Zimmertemperatur, so fangen die Bacillen nicht sofort mit der Produktion der roten Farbe an, sondern es vergehen Stunden, oft sogar Tage. Nach dieser Zeit, während welcher aber schon sehr zahlreiche Zellteilungen erfolgt sind, tritt erst die Farbstoffbildung auf. Man sieht, die Modifikation überdauert hier schon mehrere Generationen (vgl. dazu auch Bernhardt, 1915. p. 240.)

Dieses Dauern von Modifikationen kann nun, wie Jollos wieder bei *Paramecium* zeigte, noch viel erheblicher sein. Er hat hier gefunden, daß in Klonen eine bestimmte Form der Giftfestigkeit gegen arsenige Säure angezüchtet werden kann, welche ihre anders gartete Giftfestigkeit auch im arsenfreien Medium erhielt. Die Beständigkeit erstreckte sich bei rein vegetativer Vermehrung über mehr als 600 Teilungsfolgen (7—8 Monate). Abgesehen von einem später zu besprechenden Falle, ging diese Giftfestigkeit schließlich aber doch immer nach und nach wieder verloren. Durch Konjugation konnte die Giftfestigkeit hier stets mit einem Schlage wieder aufgehoben werden (vgl. dazu auch Gonders Versuche an Trypanosomen). Diese langandauernden Modifikationen, über deren kausale Verhältnisse wir nur so weit aufgeklärt sind, als die äußeren auslösenden Bedingungen in Frage kommen, werden von Jollos als Dauermodifikationen, von Reichenbach als induzierte Modifikationen oder Transformationen bezeichnet. Jollos setzt auseinander, wie solche Dauermodifikationen zweifellos auch bei vielen sogenannten Bakterienmutationen in Frage kommen. Hiermit wäre also die erste Unterabteilung der Klonumbildungen geschaffen und in ihren Bedingungen verständlich. Diese Dauermodifikationen haben aber natürlich mit Vererbung im eigentlichen

Sinne nichts zu schaffen. Es geht uns hier ähnlich wie mit den Pfropfbastarden. Auch da wird ja durch das Experiment ein ganzer Teil, der früher als auf Vererbung beruhend angesehen wurde, aus der Vererbungslehre herausgelöst; aus den Pfropfbastarden wurden — soweit nicht die von Winkler noch zu erweisenden Burdonen in Frage kommen — Periklinalchimären, aus den Bakterienmutationen werden sicher zum Teil Dauermodifikationen. Baur hat aber nun darauf hingewiesen, daß solche Dauermodifikationen auch bei höheren Pflanzen vorkommen. Er erinnerte daran, daß der Efeu in der Jugend die bekannten eckigen Blätter besitzt, wenn er aber zur Blüte kommt, nur länglich-zugespitzte. Nimmt man nun einen Zweig aus dieser Region mit länglich-spitzen Blättern, so wächst dieser zu einem Baum heran, der aber seinerseits immer nur die länglich-spitzen Blätter der Blütenregion aufweist und auch bei vegetativer Vermehrung beibehält. Bei Fortpflanzung durch Samen treten die typischen Efeublätter gar bald wieder auf. Andere derartige Beispiele aus der Welt der höheren Pflanzen gibt es noch in größerer Zahl.

Ob diese Dauermodifikationen bei höheren Pflanzen wesensgleich mit denen in Infusorien- oder Bakterienklonen sind, ist sehr zweifelhaft. Aber jedenfalls ist auch bei Bakterien schon mancherlei Verschiedenes unter den Dauermodifikationen verborgen. Wir wollen hierauf nicht spezieller eingehen.

Dagegen ist eine weitere Frage zu erörtern. Jollos fand bei seinen Infusorien auch einen Stamm, welcher seine Giftfestigkeit dauernd — durch Jahre — erhielt, auch nach Ueberbringen in arsenfreies Medium. Auch nach Konjugation blieben die Exkonjuganten giftfest. Hier spricht dann Jollos wohl mit Recht von „Mutation“. Indessen, können wir wirklich, wie Jollos anzunehmen scheint, bei Bakterien ohne Sexualität dann von „Mutationen“ sprechen, wenn Veränderungen lange — durch Jahre — anhalten und durch keine der uns bekannten Einwirkungen wieder rückgebildet werden? Wir können das sicher nur dann, wenn wir den ganzen Bau unserer früheren Schlußfolgerungen über den Haufen werfen wollen. Wo ist die Grenze zwischen Dauermodifikation und Mutation, wie lange muß der Stamm beständig sein? Und wenn wir uns auf 3 Jahre einigen, und heute sind die 3 Jahre vorüber und unser Stamm ist feierlich zur Mutation erklärt, da findet morgen irgendein Forscher doch ein Mittel, ihn zurückzuführen, und die Mutation sinkt wieder in den Stand der Modifikationen zurück. Diese Tatsache ist besonders klar schon seit langem von Bernhardt (1912) betont worden. Wir können nur dann von Mutationen sprechen, wenn wir Gene kennen. Darum bleibt, bis wir dieses Ziel bei Bakterien erreicht haben, der Rest der „Bakterienmutationen“, der nicht als Dauermodifikation erkannt ist, Klonumbildung, von deren Natur wir weiter nichts wissen. Auch da ist es, wie Bernhardt (1915. p. 244) sagt, „möglich, aber nicht erweislich, daß hier nicht bloß eine Stabilisierung biologischer Eigenschaften, sondern eine Beeinflussung der Erbmasse, ‚eine Mutation‘ stattfindet“. Solange der Beweis aber nicht geführt ist, ist mit der endgültigen Bezeichnung zurückzuhalten.

Hat uns aber so das Studium der Vererbungslehre bei sexuell differenzierten Pflanzen einen Dienst bei der Klärung der Verhältnisse der asexuellen Bakterien getan, so wollen wir unsere Erkenntnisse so gleich umgekehrt mit zur Sichtung der Verhältnisse in der Vererbungslehre der höheren Organismen benutzen.

Das Studium der „Bakterienmutationen“ hat uns darauf hingewiesen, daß „Mutation im Sinne de Vries“ ein heute fast verlassener Begriff ist. Schon Baur sagt (p. 288): „Es scheint vielleicht nicht ganz zweckmäßig, den Namen Mutation für den anders gefaßten Begriff beizubehalten. . . . Wenn ich selbst den alten Namen beibehalte, so geschieht das im wesentlichen deshalb, weil besonders in der botanischen Nomenklatur sich dieser neue Sprachgebrauch allmählich eingebürgert hat, und vor allem, weil unter dem Begriff Mutation in der oben gegebenen neuesten Definition als erbliche Aenderung aus unbekannten Ursachen noch ganz heterogene Dinge zusammengefaßt sind, daß man wohl in absehbarer Zeit wird besondere Namen geben müssen, ein Sammelname für alle diese Dinge wird wohl bald unnötig sein.“ Ich bin nun der Ansicht, daß einmal heute diese neue Namensgebung an der Zeit ist und zweitens, daß sich der Name Mutation in allen seinen verschiedenen Bedeutungen schon fast zu sehr eingebürgert und genugsam zu Verwirrungen Anlaß gegeben hat. Lassen wir einmal einige dieser Bedeutungen Revue passieren.

- 1) Mutation im Sinne von de Vries: plötzlich, richtungslos, großer Sprung, aus inneren Ursachen etc. Hiervon ist eine Eigenschaft nach der anderen abgebröckelt.
- 2) Mutation bei *Oenothera*, heute = Kombination.
- 3) Mutation der Systematiker ohne Kulturversuch = Varietät.
- 4) Bakterienmutation = Klonumbildung.
- 5) Mutation im Sinne Waagens (1867) für die kleinsten noch wahrnehmbaren Aenderungen, gewissermaßen für das Differential der organischen Umbildung im Laufe der Zeit (vgl. Reinke, Theoret. Biologie. 1901; Steinmann, Geol. Grundl. d. Abstammungslehre. 1908).
- 6) Mutation im heutigen Sinne = Genenänderung.

Es ist nun heute kaum noch zweifelhaft, daß, wenn überhaupt Klarheit in die Bezeichnungen kommen soll, der Ausdruck Mutation nicht nur für die Bakterien, sondern überhaupt fallen gelassen werden muß, mit Ausnahme seiner ursprünglichen Waagenschen Bedeutung. Wohin sollen wir kommen, wenn wir einen Ausdruck für mehr als 6 Bedeutungen beibehalten? In jüngster Zeit aber hat Reinke einen Ersatzausdruck für Mutation im Sinne der Genenveränderung, also im Sinne unserer heutigen Definition, eingeführt, welcher meiner Ansicht nach durchaus treffend ist und noch den Vorteil hat, an unsere jetzige Terminologie eng anzuschließen. In seinem Aufsatz über eine bemerkenswerte Knospenvariation der Feuerbohne verwendet Reinke statt Mutation in unserem Sinne das Wort *Alloponie*. Ich bin der Ansicht, daß dieses Wort allgemein zur Bezeichnung von Genenänderung in genotypisch wohlbekannten reinen Linien einzuführen wäre. Das Wort allein zeigt schon an, daß es bei Bakterien derzeit unbrauchbar ist.

Wir behalten dann Mutation im alten Waagenschen Sinne bei, Mutation im Sinne von de Vries wird hinfällig, Mutation statt Varietät zu verwenden bleibt zwecklos.

Der Sammelname Mutation de Vries löst sich aber auf in folgende Teilbegriffe, die sicher teilweise dann ihrerseits noch weitere Spaltungen erfahren werden:

- Kombination (*Oenothera*),
- Alloponie (Genenänderung),
- Klonumbildung (Dauervariationen bei asexueller Vermehrung):
 - a) Dauermodifikationen,
 - b) Rest x.

Literaturverzeichnis.

- Baur, Einführung in die experimentelle Vererbungslehre. 2. Aufl. 1914.
 Beijerinck, Folia microbiologica. 1912.
 Benecke, Ref. in Zeitschr. f. ind. Abstammungs- u. Vererbungsl. Bd. 2. 1909. p. 217.
 — Bau und Leben der Bakterien. Leipzig. 1912.
 Bernhardt, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 71. 1912. p. 229.
 — Ueber Variabilität pathogener Bakterien. (Ebenda. Bd. 79. 1915. p. 175.)
 Burri, Das Tuscheverfahren. 1909.
 — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910.
 — Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. 1910. p. 321—345.
 Darwin, Entstehung der Arten. 1859.
 Eisenberg, Ueber Mutationen bei Bakterien und anderen Mikroorganismen. (Ergebn. d. Immunitätsforsch. 1914. p. 28—142.)
 Gonder, Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 61. 1911. p. 102.
 Hansen, Compt. rend. Karlsberg. T. 5. 1909. p. 1. K. J. Bd. 11. p. 125.
 Jennings, Proc. Americ. Philos. Soc. Vol. 47. 1908. p. 393—546.
 Johannsen, Elemente der exakten Vererbungslehre. 2. Aufl. 1913.
 Jollos, V., Variabilität und Vererbung bei Mikroorganismen. (Zeitschr. f. ind. Abstammungs- u. Vererbungsl. Bd. 12. 1914. p. 14—35.)
 —, Experimentelle Untersuchungen an Infusorien. (Biol. Centralbl. Bd. 33. 1913. p. 222.)
 Klebs, Willkürliche Entwicklungsänderungen. 1907.
 Lehmann, Art, reine Linie, isogene Einheit. (Biol. Centralbl. Bd. 34. 1914. p. 285.)
 —, Ueber Bastardierungsversuche in der *Veronica agrestis*-Gruppe. (Zeitschr. f. ind. Abstammungs- u. Vererbungsl. Bd. 13. 1914. p. 161 ff.)
 Massini, R., Arch. f. Hyg. Bd. 61. 1907. p. 5—47.
 Müller, Reiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. 1908. Beih. p. 57.
 —, München. med. Wochenschr. 1909. p. 885.
 —, Mutationen bei Typhus- und Ruhrbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. p. 97.)
 Naegeli, Theorie der Abstammungslehre. 1884.
 Neisser, M., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. Beih. 1906. p. 98.
 —, Ibid. Bd. 57. 1913.
 Pringsheim, H., Die Variabilität niederer Organismen. 1910.
 Reinke, F., Theoretische Biologie. 1901.
 —, Eine bemerkenswerte Knospenvariation der Feuerbohne nebst allgemeinen Bemerkungen über Allogonie. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 33. p. 324—348.)
 Reichenbach, Die Vererbung erworbener Eigenschaften bei einzelligen Lebewesen. (Arch. f. soziale Hyg. Bd. 8. 1913. p. 323.)
 Shull, Genotypes, Biotypes, Pure Lines and Clones. (Science. Vol. 35. 1912.)
 Steinmann, G., Die geologischen Grundlagen der Abstammungslehre. Leipzig 1908.
 Toennissen, Ueber Vererbung und Variabilität bei Bakterien. (Biol. Centralbl. Bd. 35. 1915. p. 281—330.)
 de Vries, Die Mutationstheorie. Bd. 1. 1901; Bd. 2. 1903.
 —, Pangenesis.
 Webber, Science. Vol. 18. 1903.
 Weismann, Vorlesungen über Deszendenztheorien. 1913.
 Winkler, Pflanzbastarde. 1912.

Die Literaturliste bringt nur die für die obigen theoretischen Auseinandersetzungen wichtigsten Abhandlungen. Bezüglich alles Weiteren, besonders früherer Arbeiten sei, auf Eisenbergs ausführliche Liste verwiesen.

Nachdruck verboten.

Ueber die durch Infektion mit Bakterien der Typhusgruppe in der Leber bedingten knötchenförmigen Nekroseherde (sogenannten „miliaren Lymphome“).

[Aus der Kgl. Bayr. Militärärztlichen Akademie in München.]

Von Privatdozent Dr. Georg B. Gruber-Straßburg i. E.,
Oberarzt der Reserve.

Mit 2 Tafeln.

Die in Frage stehende Erscheinung ist bekannt, seit 1857 Friedrich in der Leber eines an Typhus verstorbenen Menschen Herdchen gefunden, die er als lymphatische Tumoren gedeutet hat. Späterhin haben sich von deutschen Autoren E. Wagner, C. E. E. Hofmann, Fraenkel u. Simmonds und namentlich M. B. Schmidt mit dieser Erscheinung beschäftigt. Auch für den Paratyphus wurde beim Menschen das Vorkommen solcher knötchenförmigen Herde im Lebergewebe festgestellt durch Burckhardt, ferner durch Barykin, Monnier u. Liberau, Wells u. Skott, wie Saltykow berichtet hat. Eine sehr große Rolle spielen miliare Nekroseherde der Leber vor allem aber auch bei Infektionen der Nutztiere mit Bakterien der Paratyphus- bzw. Gärtner-Gruppe, wie dies namentlich aus einer jüngst erschienenen Arbeit von Joest hervorgeht.

Während man sich über die Morphologie dieser häufig als „Pseudotuberkel“ bezeichneten Herdchen nicht so sehr im unklaren ist, sind die Anschauungen über ihr Zustandekommen rein hypothetischer Natur. Was das Wesen der menschlichen Typhusknötchen in der Leber angeht, so haben Fraenkel u. Simmonds die Ansicht vertreten, es handle sich um kleinste umschriebene Degenerationsherde des Leberparenchyms, die sich dann durch reaktive Prozesse, vor allem durch Anhäufung von Rundzellen in den nekrotischen Partien zu sogenannten Lymphomen umwandeln. M. B. Schmidt hält die Bildung der Herdchen für komplizierter; er sagt, es gehe der Nekrose fast stets ein zellreiches Stadium voran, das bedingt sei durch Atrophie der Leberzellen, Vergrößerung und Wucherung der Kapillarendothelien (Kupfferschen Sternzellen), wohl auch durch phagocytäre Tätigkeit dieser Elemente. Die Herdchen stellten nichts anderes dar als Bezirke von akuter — nicht aber gelber — Leberatrophie, in denen dann nekrotische Vorgänge einsetzten, denen wiederum die Einwanderung von Leukocyten in verschiedener Mächtigkeit folge. Bald bleibe zentral eine nekrotische Zone frei, so daß die infiltrierenden Zellen einen Ring bilden, bald würde das ganze Nekroseherdchen von Leukocyten besetzt sein. Ledschbor, der analoge miliare Organnekrosen bei Paratyphus B-kranken Kälbern untersucht hat, faßt die Herdchen als nekrotische, intraacinöse Parenchymzonen auf, die durch verschiedene reaktive Erscheinungen — Hyperämie, Gerinnung und Fibrinbildung, Zellinvasion, Gewebsgranulation -- ausgezeichnet sind.

Eine gänzlich abweichende Anschauung vertritt Joest. Nach ihm sind die Herdchen in der Leber „ruhrkranker“ Kälber aus Milzzellenembolien in das Pfortadernetz herzuleiten. Phagocytäre, frei gewordene Milzzellelemente sollen in kleinen, umschriebenen Bezirken die Pfort-

aderkapillaren verstopfen, Druckatrophie des angrenzenden Lebergewebes hervorrufen. Nach dem Verschwinden der Leberzellen sollen sich aus dem embolischen Material, aus den Kapillarendothelien und eingeschleppten Leukocyten zahlreiche Herdchen bilden, die endlich der Nekrobiose verfallen. Diese Ansicht ist ähnlich für die Lebererscheinungen beim menschlichen Typhus schon von Mallory vertreten worden (Joest, Posselt). Auch bei Kirch spielt die Kompression als Ursache dieser Nekrosen in den durch Paratyphus B erzeugten Herdchen eine Rolle. Die Kompression soll durch Ansammlung eingewanderter Entzündungselemente (Lymphocyten und Leukocyten) bedingt sein.

Die Ansicht von Joest, bzw. Mallory über die Natur der Leberherdchen sieht also den Grund ihres Entstehens außerhalb der Leber, Joest in frei gewordenen und eingeschwemmten Milzpulpaelementen, Mallory in abgestoßenen und eingeschwemmten Milzendothelien bzw. Endothelien der Darmgefäße.

Andere Autoren, vor allem Benda, meinen, daß Typhusbacillen örtlich die miliaren Leberherdchen bedingen. Als Stütze für diese Anschauung wird meistens ein Befund von Gaffky angeführt, der „nur in einem Falle zwischen den gedrängt angeordneten Kernen vereinzelte Bacillen gefunden hat“, während er in einem anderen Falle „einen kleinen Bacillenherd unmittelbar einer solchen Kernanhäufung anliegend“ fand, „ohne daß sich indes irgendeine Wechselbeziehung hätte erkennen lassen“. Fraenkel u. Simmonds fanden in einem Kaninchenversuche innerhalb eines nekrotischen Leberknötchens bakterioskopisch Typhusbacillen, was ihnen aber nicht sehr beweiskräftig zu sein schien für den direkten örtlichen Zusammenhang zwischen Typhuskeimen und Leberherdchen. Die Autoren nehmen vielmehr ebenso wie M. B. Schmidt toxische Ursachen als Grund für die Entstehung der miliaren Lebernekrosen bei Typhus an.

Bei dieser Unklarheit über das Wesen der miliaren Leberherdchen war es naheliegend, auf experimentellem Wege der Frage über das Zustandekommen der Leberherdchen näher zu treten. Dazu schien als Versuchstier das Kaninchen geeignet, als Krankheitserreger der Paratyphus B, und zwar ein aus menschlichem Stuhl gezüchteter Keim, nachdem die Typhusinfektion des Kaninchens nicht regelmäßig genug die Leber zu schädigen scheint (vgl. auch Fraenkel u. Simmonds).

I. 6 Kaninchen, von denen 2 durch Laparotomie und Splenektomie der Milz vollständig beraubt waren, wurden mit starken Dosen (bis 50 Millionen) verschieden virulenter Paratyphus B-Keime in physiologischer Kochsalzlösung durch vorsichtige Einspritzung in die Ohrvene infiziert. 5 Tiere gingen schon im Verlauf der nächsten 24—48 Stunden zugrunde. Doch hat 1 Kaninchen auch mehrfache Einspritzungen, bis zu 50 Millionen Bacillen schadlos vertragen, eine Beobachtung, die auch Kirch gemacht hat.

II. 1 entmilztes und 2 normale Kaninchen wurden mit einer durch Porzellan-kerzenfiltration gewonnenen bakterienfreien Bouillon einer 14 Tage alten Paratyphus B-Kultur intravenös geimpft. Dabei wurden je nach Gewicht des Tieres 5—20 ccm Bouillon verabreicht. Alle Tiere starben im Verlaufe von 20 Minuten bis 48 Stunden.

III. 4 normale Kaninchen wurden mit einer in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten Menge von ca. 50 Millionen frisch abgetöteter, 24 Stunden alter Paratyphus B-Keime intravenös, bzw. subkutan, bzw. intraabdominell eingespritzt. Die Abtötung der äußerst virulenten, mehrfach gewaschenen und abzentrifugierten Bakterien wurde in einem Schüttelapparat bei 70° C während der Dauer von 1½ Stunden vorgenommen. Kulturen, die nach dieser Schüttelung in größerer Reihe angelegt wurden, blieben steril. Die damit geimpften Tiere starben innerhalb ¼—12 Stunden nach der Einspritzung.

Um nicht unnötig Raum zu vergeuden, seien hier nur kurz die Ergebnisse der Versuche ohne ausführliche Protokolle mitgeteilt: Am wirksamsten erwies sich die Einspritzung der toten, gewaschenen Paratyphus B-Keime (Versuchsreihe III). Hier traten bei 2 Tieren bald nach der Einspritzung klonische Krämpfe in allen Extremitäten auf. Obwohl sich das eine Kaninchen davon erholte, und die 2 letzten, die subkutan und intraperitoneal geimpft waren, gar keine Krämpfe beobachten ließen, ergab die Sektion bei allen 4 Tieren einen Austritt geringer Mengen blutartiger Flüssigkeit in die Brust-, Herzbeutel- und Bauchhöhle. Milz und Leber waren wie angeschopt; die serösen Häute zeigten spärlich verstreut Blutaustritte, besonders das Lungenfell. Mikroskopische Organuntersuchungen ließen allein in 2 Fällen eine starke Protoplasmaschädigung des ganzen Leberparenchyms bei akuter Pfortader- und Lebervenenstauung erkennen. Das Protoplasma der Leberzellen war körnig, trübe; die Kerne waren undeutlich, wie verdeckt durch einen Schleier krümeliger Gebilde; Fettfärbung versagte. Sicherlich war keine Spur einer herdweise erfolgten Degeneration oder einer Infiltration oder einer Embolisation des Leberparenchyms zu entdecken. Aus den Organen und der Galle dieser Tiere ließen sich keine Bakterien züchten.

Ein ähnlich negatives Resultat ergab sich bei der Versuchsreihe II. Weder das entmilzte, noch die normalen Kaninchen ließen miliare Nekrosen oder „pseudotuberkulöse“ Herderscheinungen wahrnehmen. Daß 2 der Tiere — es waren die Kaninchen mit Milz — mehr oder weniger starke lymphocytäre Infiltration der Glissonschen Kapsel aufwiesen, fällt wohl außer den Rahmen des Versuches. Im übrigen ergab die Sektion ebenfalls Blutaustritte unter Lungenfell und Epikard, der Darminhalt der Tiere war diarrhoisch dünn, obwohl sie vorher in dieser Richtung kein krankhaftes Verhalten gezeigt hatten. Aus den Organen und der Galle dieser 3 Versuchstiere konnten Paratyphuskeime nicht gezüchtet werden.

Anders war das Ergebnis der I. Versuchsreihe. 5 von den 6 Kaninchen, darunter die 2 entmilzten Tiere, ließen in der Leber miliare Nekroseherde erkennen. Bei einem Tiere war, wie oben erwähnt, eine dreimalige Paratyphus-Injektion vergeblich gewesen. Bei der Sektion, mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchung erwies sich dies Tier, das gewaltsam getötet worden war, als gesund. Die übrigen 5 Kaninchen zeigten eine Füllung des ganzen Darmes mit diarrhoisch dünnem Stuhl. Die Darmschleimhaut war etwas geschwellt, jedoch nirgends ulzeriert. Die Lymphdrüsen der Gekrösewurzel schienen nicht vergrößert zu sein. In der Bauchhöhle war nur eine Spur leicht sanguinolenter Flüssigkeit. Die nicht entmilzten Tiere zeichneten sich durch Milzvergrößerung aus. An der Leber fiel mit freiem Auge außer ihrem Blutreichtum nichts auf. Die Gallenblase enthielt in jedem der 5 Fälle eine dicke, schmierige, gelb-grüne, schleimige bis krümelige Flüssigkeit. Das Lungenfell der unteren Lungenabschnitte und das Epikard ließen Blutaustritte durchscheinen. Aus der Galle, dem Blut, dem Urin, dem Darminhalt, dem Leber-, (Milz-) und Nierensaft dieser 5 Tiere konnte Paratyphus B sofort in Reinkultur gezüchtet werden.

Was den mikroskopischen Befund der Lebern dieser 5 Tiere der Versuchsreihe I anbelangt, so möchte ich ihn hier nur kurz an Hand der Beobachtungen an dem entmilzten Kaninchen No. 42 und dem Kaninchen No. 47 wiedergeben.

Kaninchen 42. Splenektomiert am 24. Febr. 1915 in Aethernarkose; glatte Heilung. Am 7. März 1915 mit frisch gezüchteten, virulenten Paratyphuskeimen intravenös geimpft. Dosis: 2 Millionen Keime.

Am Morgen des 9. März 1915, etwa 40 Stunden nach der Impfung, tot aufgefunden. Aus dem Blute der Organe des Tieres Paratyphus B reingezüchtet. Die Leber bot dem unbewaffneten Auge keinerlei Besonderheiten dar. Mikroskopisch (Fig. 1) erwies sich jedoch die Leber durchsetzt mit zahlreichen submiliaren Herdchen, die im ganzen Lebergebiet, und zwar intraacinös, angetroffen wurden. Sehr zahlreich lagen sie auch nahe der Leberkapsel im äußersten Bezirk der randständigen Leberläppchen. Bei schwacher Vergrößerung gewann man den Eindruck, als ob das Leberparenchym in rundlicher Form an Stelle dieser Herdchen völlig ausgeschmolzen und nur ein feines Gerüst, im wesentlichen bestehend aus den Kapillarendothelien, zurückgeblieben wäre. Manche Stellen zeigten jedoch noch im Zentrum der Herdchen gelegene, schollige, wie geronnene Massen, in der Größe von 1—2 Leberzellen, die sich nicht näher differenzieren ließen und bei Anwendung von Hämatoxylin-Eosin einen grau-blauen Farbton annahmen. Bei starker Vergrößerung zeigten sich diese — durchaus nicht regelmäßigen — zentralen Gebilde als Zusammensinterung eines feinkrümeligen, kernlosen Zellmaterials; ein unregelmäßiges, oft eingerissenes Netzwerk, zumeist bestehend aus Kupfferschen Sternzellen, zog sich zwischen den Grenzen der fraglichen Herdchen hin. Auch freie geschädigte Zellkerne, Chromatinkrümel und einzelne Leukocyten waren im Netz zu sehen. Sehr oft war das Netz von roten Blutkörperchen erfüllt. Diese erschienen jedoch nicht immer intakt, vielmehr erwiesen auch sie sich manchmal geschädigt, zusammengesintert, kongeliert; eine stärker eosinfarbene Zone war manchmal wie ein Ring am Randbezirke solcher Herdchen zu sehen. Dagegen konnte eine Blockierung der Pfortaderkapillaren mit embolischem Material irgendwelcher Art in unmittelbarer Umgebung der Herdchen niemals wahrgenommen werden, wenn auch der Gehalt an Leukocyten hier — nicht regelmäßig — leicht vermehrt erschien, vielleicht auch die Kupfferschen Sternzellen deutlicher hervortraten. Bakterien konnten mit mannigfachen Färbungen in solchen Herdchen nicht gefunden werden, doch soll auf die Frage nach der Anwesenheit von Bakterien unten noch näher eingegangen werden.

Wie die eben geschilderten Verhältnisse gelagert waren, so zeigten die Lebern der mit Paratyphus infizierten und schnell zugrunde gegangenen Kaninchen nahezu regelmäßig ihre Veränderungen.

Ein etwas anderes Bild ergab sich bei dem Versuche mit Kaninchen 47.

Kaninchen 47 wurde am 7. März 1915 mit 50 Millionen von auf Agarplatten frisch gezüchteten, abgeschwemmten, dann 1 Stunde lang bei 50° geschüttelten und mit 1 Proz. Karbolsäure versetzten, also bedeutend geschädigten — aber, wie Kontrollkulturen ergaben, nicht abgetöteten — Paratyphus-B-Keimen intravenös behandelt. Das Kaninchen befand sich augenscheinlich zunächst ganz wohl, 3 Tage danach zeigte es Durchfallerscheinungen, 5 Tage danach wurde es sterbend im Stall aufgefunden und durch Nackenschlag getötet. Aus allen Organen des Kadavers konnten wieder vollkräftige Paratyphus B-Bacillen gezüchtet werden.

Die Leber wies makroskopisch keine Besonderheiten auf. Mikroskopisch bot sich jedoch ein eigentümliches Bild, insofern über das ganze Organ verstreut an zahlreichen Stellen Wucherungen der Kapillarendothelien der Pfortader zu sehen waren, welche oft so stark herdförmig und in Strängen sich ausgebildet und die Leberzellbalken auseinander geschoben hatten, daß man bei oberflächlichem Anblick hätte glauben können, eine Metastasierung von Geschwulstelementen vor sich zu haben. Fig. 2 mag davon einen Begriff geben. Abgesehen von dieser recht allgemeinen Endothelwucherung zeigte die Leber aber auch Paratyphusnekrosen in submiliarer Größe. Sie waren aber nicht so scharf umschrieben, sahen nicht so „ausgeschmolzen“ aus, wie im vorher beschriebenen Falle, sondern machten mehr den Eindruck der als „Lymphome“ beschriebenen Typhusherdchen in der Menschenleber, was durch die lebhafteste Beteiligung der gewucherten Kapillarendothelien vor allem im Randbezirke der Nekrose zu erklären war. Jedoch gilt diese Beteiligung nicht für alle Nekroseherde. Im Zentrum solcher Herdchen ließen sich Leberzellen nicht mehr erkennen. Hier fanden sich pyknotische Kernfiguren in einem homogenisierten, feinkrümeligen Protoplasmahof, Kerntrümmer, rote Blutzellen und Kupffersche Sternzellen, wohl auch der eine oder andere Leukocyt. Auch hier konnten Bakterien im Schnitte nicht nachgewiesen werden.

Uebersieht man diese histologischen Befunde und vergleicht sie mit den beim Menschen für Typhus beschriebenen (M. B. Schmidt), so muß man einen wesentlichen Unterschied zugestehen. Das Stadium der

Atrophie der Leberzellen, das auch unsere Fig. 3 eines miliaren Typhusknötchens in der menschlichen Leber recht gut erkennen läßt, fehlt bei den Versuchsergebnissen. Und wenn wir uns kurz die Angaben Joests für die Kälberruhr vor Augen halten, so vermissen wir bei den Versuchsergebnissen am Kaninchen die Blockierung der die Leberherdchen umgebenden Kapillaren mit embolischem Zellmaterial.

Wir können jedenfalls aus unseren Versuchen mit Sicherheit schließen, daß Milzzellembolieen, überhaupt Zellembolieen, bei Entstehung solcher Herdchen nichts zu tun haben. In irgendwelchen Schnitten müßte man sie doch nachweisen können, wenn sie tatsächlich an der Erscheinung der Knötchen, nennt man sie nun „Pseudotuberkel“ oder „miliare Nekrosen“, schuldig wären. Außerdem können bei Milzmangel keine Milzzellembolieen in die Leber zustande kommen.

Das aber ist nicht bestimmt zu entscheiden, ob die Entstehung der Nekrosen in ihrer Schnelligkeit und Deutlichkeit, ebenso wie in ihrem Umfang beim Kaninchen der Entstehung beim Menschen absolut gleichgesetzt werden kann. Die brutale, schwere und augenblickliche Bakterieninfektion beim Versuchstier ruft offenbar primär eine Leberzellennekrose, sekundär reaktive Vorgänge, teils chemotaktischer Natur, teils Wucherungsvorgänge der Kapillarendothelien überhaupt, speziell aber an den Nekrostellen hervor. Diese Wucherungsbilder sieht man nur bei längerem Verlauf der erzeugten Paratyphuskrankheit des Tieres. (Sie haben übrigens auch Ähnlichkeit mit den bei experimentellen Blutgiftanämien der Kaninchen erzeugten Reaktionsherden im Kapillargebiet der Leber.)

Daß man beim Menschen so klare und schwere miliare Nekrosen, eine förmliche Ausschmelzung von Lebergewebe nicht oder nur ganz vereinzelt zu sehen bekommt, beruht wohl auf dem mehr und mehr sich steigernden Einfluß der Typhusinfektion des Individuums, beruht wohl darauf, daß der Körper nicht so brutal von den fraglichen Giftstoffen überflutet wird und von Anfang an sich entsprechend reaktiv verhalten kann, dort, wo Schädigungen einsetzen, die wir vielleicht weniger an regressiven morphologischen Einzelheiten erkennen können als an reaktiven Zeichen. So würden sich die von M. B. Schmidt und anderen geschilderten Bilder verstehen lassen, bei denen der Leberzellennekrose eine Atrophie mit Wucherung der Kapillarendothelien, ja eine scheinbare Blockierung der zuführenden Blutkapillaren mit solchen Endothelien stattgefunden hat. Der Versuch mit dem langsamer zugrunde gegangenen Kaninchen No. 47 spricht jedenfalls im Sinne solcher Erklärung. Es muß weiteren systematischen histologischen Leichenuntersuchungen und weiteren Tierversuchen — am besten wohl mit Typhusmaterial — überlassen bleiben, über diese histologischen Kleinfragen noch nähere Auskunft zu geben.

Ungeklärt ist auch noch die Frage, wodurch diese nekrotischen Leberherdchen bedingt sind. Nachdem wir oben die Joest-Mallorysche Erklärung der Ernährungsschädigung durch Blockierung mit embolischem Material abgelehnt haben, bleibt nun die Frage offen, ob direkte Bakterienwirkung oder Toxinwirkung an der Gewebsschädigung schuldig ist.

Um diese Frage zu klären, wurden von den Lebern der 5 geeigneten Paratyphusversuchstiere (Reihe I), ebenso wie von einem Dutzend verschiedener menschlicher Typhuslebern, zahlreiche Schnitte nach Färbung mit Methylenblau, mit Methylgrün-Pyronin und nach der Silberimprägnation von Levaditi untersucht. Die Versilberungsmethode ließ deshalb brauchbare Resultate erwarten, weil kürzlich erst Paul

Schneider mit ihr bei eigenartigen (paratyphösen?) Darmerkrankungen von Säuglingen innerhalb disseminierter miliärer Lebernekrosen Bakterien gefunden hat. Es ist mir mit keiner der genannten Methoden geglückt, in den Typhus- oder Paratyphusknötchen der Leber Bakterien zu finden, eine Beobachtung, die sich den Erfahrungen von Fraenkel und Simmonds, M. B. Schmidt und Joest anreicht. Dagegen konnte ich außerhalb, fern von diesen Nekroseherden, namentlich in Lebern, die nach der Sektion einige Stunden unfixiert aufbewahrt worden waren, sehr deutlich Bakterienhäufchen und Bakterienzüge, wie Embolien nachweisen; vgl. dazu Fig. 4 nach einem Methylgrün-Pyronin-Präparat von der Leber des Kaninchens No. 43. In solchen Fällen waren die angrenzenden Lebergewebspartien intakt. Es entspricht diese Beobachtung Befunden, wie sie Fraenkel u. Simmonds an Typhusleichen und an den Organen von Typhusversuchstieren erhoben haben.

Andererseits konnte in den Versuchsreihen II und III mit einem Paratyphustoxin und einem Paratyphusendotoxin kein Resultat im Sinne der miliären Lebernekrosen erhalten werden.

Was besagen diese Versuche nun zur Entstehungsursache der Paratyphus- und Typhusknötchen?

Fürs erste sieht es aus (Versuchsreihe I), als ob die Entstehung solcher miliärer Lebernekrosen doch an die Anwesenheit der lebenden Bakterien geknüpft sei; denn in das Blut eingespritzte tote Bakterien konnten trotz hoher Giftigkeit solche Wirkung nicht entfalten. Andererseits können wir sagen, daß die von uns in vitro reproduzierten Paratyphusgifte nicht geeignet sind zur Erzeugung von miliären Lebernekrosen bei Versuchstieren. Gleichwohl aber müssen wir die Möglichkeit der toxischen Natur solcher Nekrosen trotzdem zulassen. Wissen wir doch, daß Flexner z. B. mit Rizin und Abrin ähnliche miliäre Lebernekrosen zu erzeugen vermochte. Da wir so gut wie gar nicht über die Zusammensetzung des im tierischen Körper zur Wirkung kommenden Paratyphusgiftes — ebensowenig etwa wie über das Choleratoxin, über das Ruhrtoxin usw. — orientiert sind, müssen wir die Möglichkeit zulassen, daß die miliären Lebernekrosen bei Typhus und Paratyphus toxischer Natur sind, zumal die Fahndung auf Bacillen in solchen Herden bei weitaus der Mehrzahl aller untersuchten Fälle erfolglos war. Wenn Gaffky und Fraenkel u. Simmonds in je einem Falle eine Bakterienablagerung innerhalb eines solchen Knötchens gefunden haben, so kann das auch durch sekundäre Einschwemmung erklärt werden oder durch Einwachsung der Keime.

Nun ist aber noch auf eine Erscheinung aufmerksam zu machen. Es gibt beim menschlichen Typhus wie beim tierischen Paratyphus auch wohl mitunter knötchen- und knotenförmige Erscheinungen, die vielleicht den oben geschilderten sehr ähnlich sind, jedoch meist durch die gleichzeitige Anwesenheit größerer benachbarter Herde und Zerfallskomplexe sich charakterisieren. Solche Herdchen und Herde stellen Uebergänge zu Abszeßchen und Abszessen dar. Hier handelt es sich auch nicht mehr um blande Nekrosen, sondern um bakterienhaltige, eiterige Knötchen mit allen möglichen Entzündungserscheinungen. Zu dieser Art von Erscheinungen dürften wohl die Beobachtungen von Engelhardt, von Langer und von Kirch gehören. Es fragt sich aber, ob nicht nur ein gradueller Unterschied zwischen solchen abszeßartigen Knötchen und den oben beschriebenen einfachen Nekroseherdchen besteht. Es könnte sein, daß die oben geschilderten miliären Nekrosen doch auch von in

loco zugrunde gegangenen und aufgelösten Bakterien erzeugt werden, eine Ansicht, welche auch Benda geäußert hat. Könnte sich ein oder das andere Bakterium bei besonderer Virulenz lebendig erhalten, oder würde in die primär einfach toxischen Nekrosen sekundär virulentes Bakterienmaterial eingeschwemmt, dann könnten sich die abszeßähnlichen Knötchen entwickeln, bei denen dann natürlich auch der Bakteriennachweis viel leichter gelingen muß. Jedenfalls ist die ganze Frage an einschlägigem Material weiterer Bearbeitung nach jeder Richtung hin wert.

Zusammenfassung.

Die beim Paratyphus der Tiere und beim Typhus des Menschen in der Leber gefundenen sogenannten „Pseudotuberkel“ entstehen nicht infolge Druckatrophie oder Ernährungsstörung des Parenchyms nach Embolie von Milzendothelien in die Pfortaderkapillaren.

Wahrscheinlich sind diese miliaren Leberherdchen durch uns nicht näher bekannte und bisher nicht dargestellte Toxine bedingt, die durch die Bakterieninfektion zur Entstehung und Wirkung kommen.

Tierexperimente mit Paratyphusinfektion sprechen dafür, daß die Gewebsalteration der Leber in einer schweren, bis zur Nekrose gehenden Schädigung der Leberzellen besteht, während gleichzeitig, vielleicht auch bei weniger brutaler Infektion schon vor der sichtbaren Parenchymschädigung eine reaktive Wucherung der Gefäßendothelien in der Leber einsetzt. Diese Wucherung an Stelle der miliaren Nekroseherdchen kann zu einem Bilde führen, das „miliaren Lymphomen“ ähnlich ist.

Literatur.

- Benda, Diskussion zum Vortrag von Joest. (Verhandl. d. Deutsch. pathol. Gesellsch. XVII. Tagung 1914. p. 260.)
 Burckhardt, Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 1912. p. 49.
 Engelhardt, München. med. Wochenschr. 1898. p. 765.
 Flexner, John Hopkins Hospit. Rep. 1897. p. 259. Fig. 3 u. 4.
 Fraenkel u. Simmonds, Die ätiologische Bedeutung der Typhusbacillen. Hamburg 1886/87.
 Friedreich, Virchows Arch. Bd. 12. 1857. p. 53.
 Gaffky, Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 2. 1884. p. 372—420.
 Hoffmann, Untersuchungen über die pathol.-anatom. Veränderungen der Organe bei Adominaltyphus. Leipzig (Vogel) 1869.
 Joest, Verhandl. d. Deutsch. pathol. Gesellsch. XVII. Tagung 1914. p. 238 (Literatur!)
 —, Zeitschr. f. Infektionskrankh. etc. d. Haustiere. Bd. 15. 1914. p. 307.
 Kirch, Arch. f. Hyg. Bd. 78. 1913. p. 327.
 Langer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 47. 1904. p. 353.
 Ledschbor, Zeitschr. f. Infektionskrankh. etc. d. Haustiere. Bd. 6. 1909. p. 380.
 Mallory, zit. nach Posselt und nach Joest.
 Posselt, Ergebn. d. allg. Pathol. u. pathol. Anat. von Lubarsch u. Ostertag. Abt. II. Bd. 17. 1915. p. 741 ff. (Literatur!).
 Saltykow, Virch. Arch. Bd. 211. 1913. p. 467.
 Schmidt, M. B., Centralbl. f. allg. Pathol. u. path. Anat. 1907. p. 593.
 Schneider, Paul, Virch. Arch. Bd. 219. 1915. p. 74.
 Simmonds, siehe Fraenkel u. Simmonds.
 Wagner, E., Arch. f. Heilk. 1860. Jahrg. I. p. 322.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Kleine Nekroseherdchen in der Leber eines 40 Stunden nach Paratyphusinfektion gestorbenen, entmilzten Kaninchens (No. 42). Die sehr kleinen Nekroseherde liegen im Bereich der Acini, ein Herdchen lehnt sich unmittelbar an ein Glisson-sches Gewebsdreieck an. (Technik: Hämatoxylin-Eosin, Optik: Winkel, Obj. 4a; Ok. 3.)

20*

Fig. 2. Wucherung der Kapillarendothelien in der Leber eines Kaninchens (No. 47), das nach Einspritzung von abgeschwächten Paratyphuskeimen noch 5 Tage lebte. Außer diesen Wucherungen waren auch miliare Gewebsnekrosen vorhanden, in deren Bereich sich ebenfalls vielfach eine Wucherung der Kapillarendothelien geltend gemacht hatte. (Technik: Hämatoxylin-Eosin, Optik: Winkel, Obj. 4a, Ok. 4.)

Fig. 3. Miliare Nekrose (= „Pseudotuberkel“) in der Leber eines jungen, an Typhus verstorbenen Mannes. Der Typhus hatte 3—4 Wochen bestanden. (Technik: Hämatoxylin-Eosin, Optik: Winkel, Obj. 4a, Ok. 4.)

Fig. 4. Bakterienherd im Bereich der Pfortaderkapillaren eines Kaninchens (No. 43), dem 40 Stunden vor dem Tode 50 Mill. abgeschwächter Paratyphuskeime in die Ohrvene gespritzt worden waren. Nach der Sektion des Tieres wurde die Leber, die im übrigen nicht geschädigt war, einige Stunden frisch aufbewahrt, ehe sie zur Fixation eingelegt wurde. (Technik: Methylgrün-Pyronin, Optik: Winkel, homogene Immersion 1,8, Oc. 2.)

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen zur Feststellung der Mindestzahl von Bacillen, die beim Meerschweinchen noch Tuberkulose hervorruft.

I. Mitteilung.

[Aus der bakteriolog. Abteilung des schweiz. Gesundheitsamtes in Bern.]

Von Dr. I. Thöni und Dr. A. C. Thaysen.

A. Einleitung.

Es bedarf wohl keiner näheren Begründung, daß die Lösung der Frage über die Minimalmenge des Tuberkuloseerregers, die für das Zustandekommen einer Infektion erforderlich, nicht allein von hohem theoretischen Interesse, sondern auch für die Prophylaxe wie die Pathogenese der Tuberkulose von grundlegender Bedeutung ist. Dieselbe wird auch kaum dadurch geringer, weil ihre Ergebnisse aus naheliegenden Gründen sich nur auf das Tierexperiment stützen können und daher in erster Linie die Verhältnisse beim tierischen Körper klarlegen.

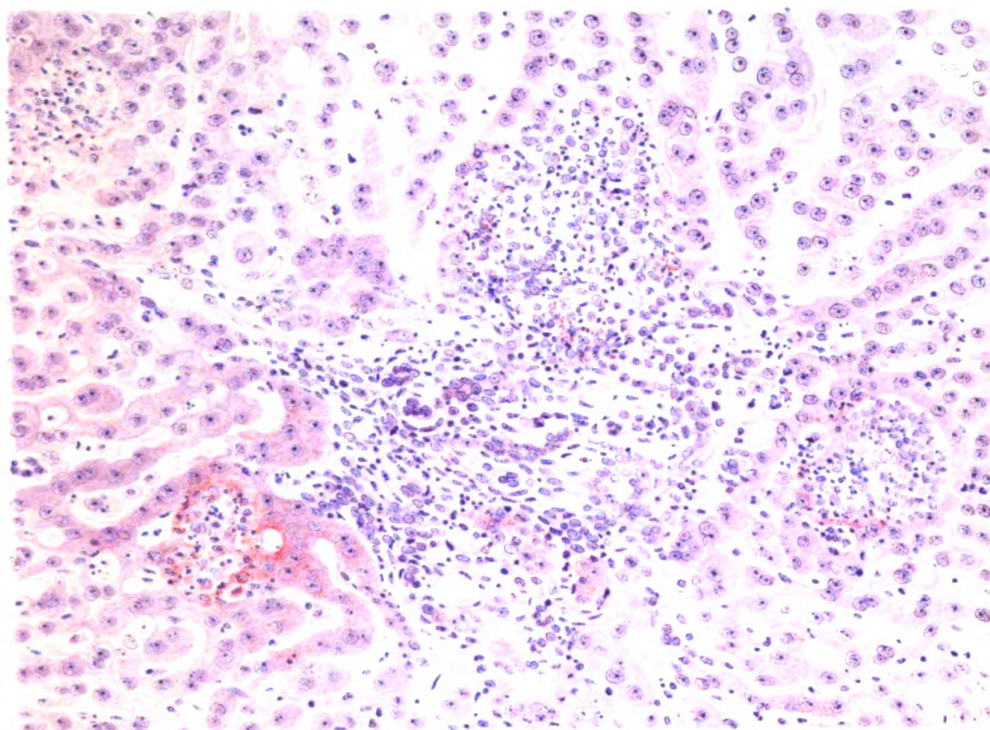
Wie aus verschiedenen Abhandlungen der älteren und neueren Literatur zu entnehmen ist, war das Bedürfnis, über die Infektiosität des Tuberkelbacillus Aufschluß zu gewinnen, stets rege; auch hat es nicht an Versuchen gefehlt, auf experimentellem Wege eine Klärung dieser Frage herbeizuführen. Wenn nun diese Untersuchungen, d. h. also die Bestimmung der Mindestzahl von Keimen des Tuberkuloseerregers, die noch ausreicht, Tiere zu infizieren, nicht zu einem endgültigen Resultat gelangt sind, so ist das auf den Umstand zurückzuführen, daß mit den hierbei zur Verwendung gekommenen Untersuchungsverfahren dieses Ziel nicht zu erreichen war.

Sieht man von den ältesten, dem vorerwähnten Zwecke dienenden Versuchen [Gebhardt¹⁾, Preyss²⁾] ab, weil sie nicht mit Reinkulturen des Tuberkelbacillus vorgenommen wurden, so ist, mit einer Ausnahme, von einem Zählen der Keime überhaupt Abstand genommen worden. Als Ausgangspunkt diente das Gewicht (Milligramm) feuchter Tuberkelbacillenmasse. Dabei beschränkten sich die einen Autoren darauf, einfach festzustellen, bei welchem Bruchteil eines Milligramms feuchten

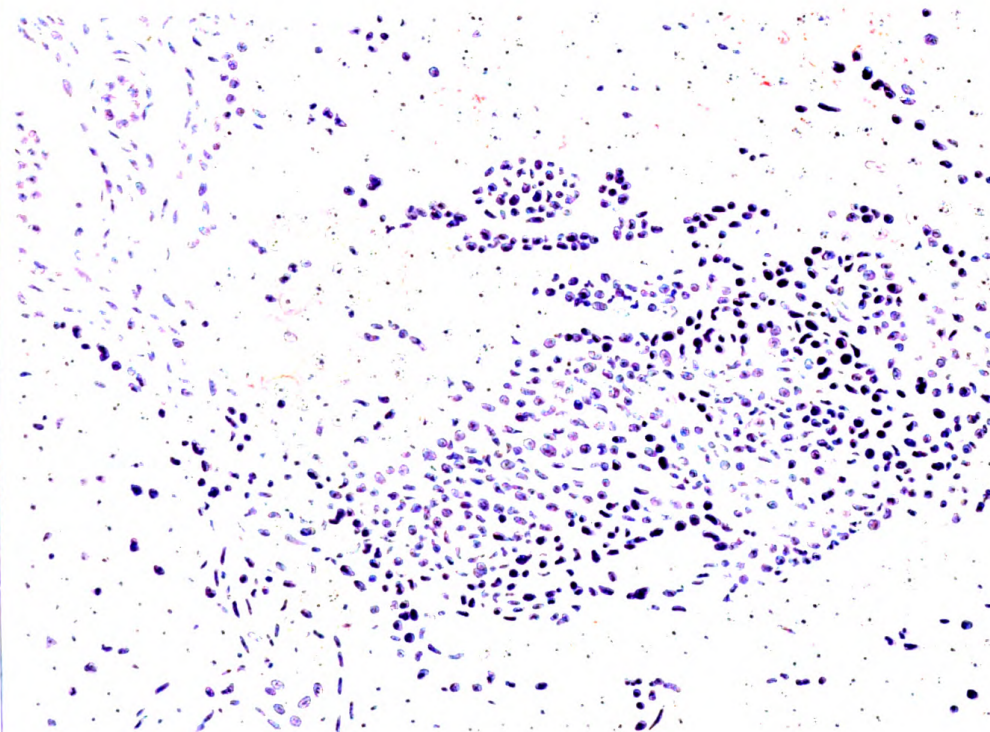
1) Gebhardt, Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. u. f. klin. Med. Bd. 119. 1890. p. 127.

2) Preyss, München. med. Wochenschr. 1891. No. 24 u. 25.

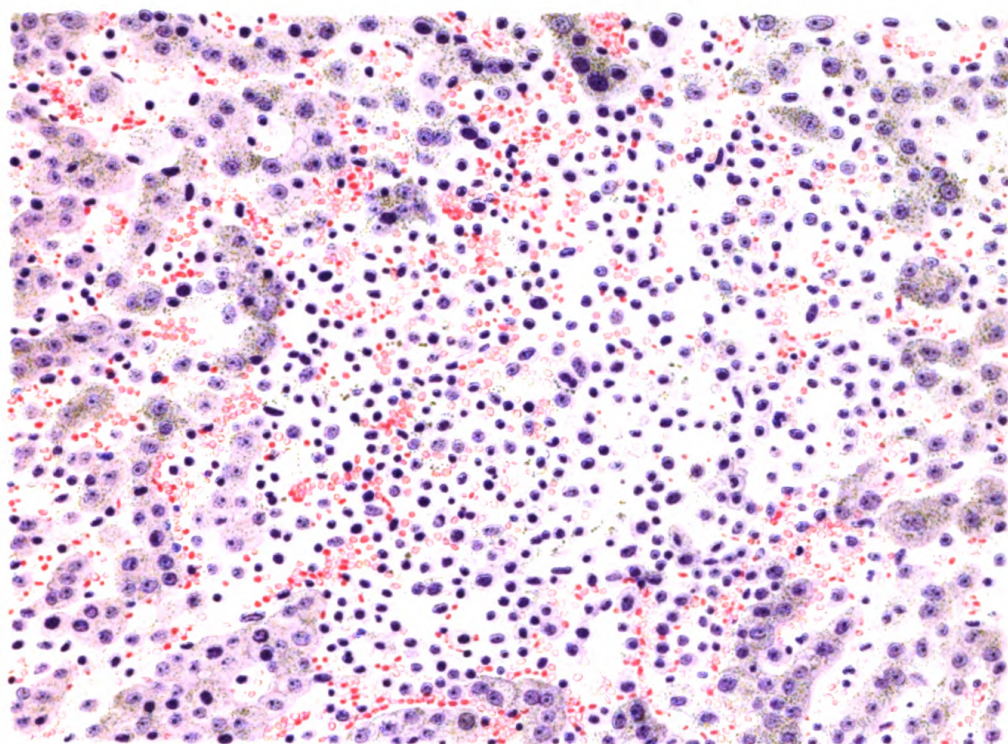
1.



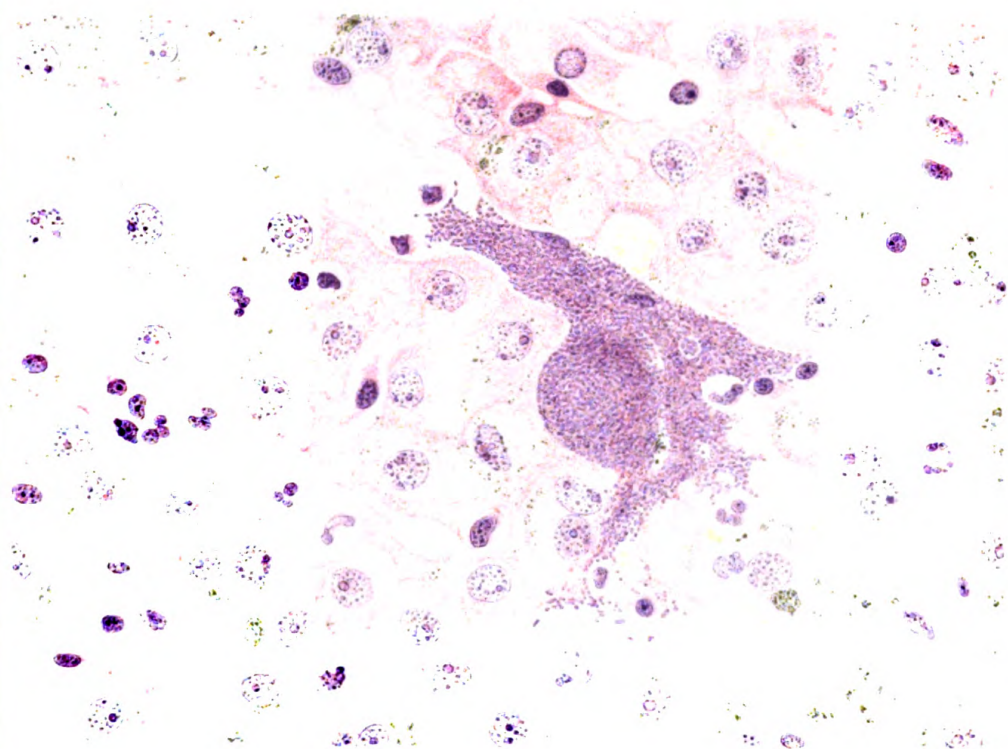
2.



3.



4.



Gg. B. Gruber.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Lith. Anst. v. A. G. Vogel in Jena

Tuberkelbacillenrasens bei Tieren noch Infektion erfolge, während andere nebstdem die Anzahl der in einem Milligramm vorkommenden Tuberkelbacillen an der Hand von Gelatineplatten einer daselbst gut wachsenden Bakterienart berechneten.

Bei näherer Ueberlegung wird man sich eingestehen müssen, daß bereits das Prinzip, welches diesen Untersuchungen zugrunde liegt, anzufechten ist; denn es wird wohl niemand im Ernste behaupten wollen, daß die pathogenen Eigenschaften von vermehrungsfähigen Organismen eine Funktion des Gewichtes ihres Kulturrasens seien. Aber auch, abgesehen von theoretischen Erwägungen, hält das in Frage stehende Verfahren schon aus dem naheliegenden Grunde einer Kritik nicht stand, weil die Konsistenz des Tuberkelbacillenrasens nicht nur bei verschiedenen Stämmen verschieden ist, sondern selbst innerhalb des gleichen Stammes von Kultur zu Kultur wechselt. Entsprechend der verschiedenen Konsistenz wird naturgemäß auch die Zahl der Tuberkelbacillen pro Gewichtseinheit der Kultur stets wieder eine andere sein. Dadurch werden aber die auf diese Weise gewonnenen Resultate für unsere Frage unbrauchbar, indem die Prüfung ein und desselben Stammes zu ganz verschiedenen Ergebnissen führen kann. Es kann daher dieses Verfahren auch nicht anders als ein Notbehelf aufgefaßt werden. Erst in neuerer Zeit hat Selter¹⁾ den bereits bei den ersten Versuchen Gebhardts²⁾ betretenen Weg wieder eingeschlagen. Er „stellte durch Zählung in jedem Versuch die Zahl der Bacillen fest“. Da in der diesbezüglichen Abhandlung sonst keine Angaben über die weiteren Einzelheiten der von ihm befolgten Technik gemacht werden, so ist anzunehmen, daß die Zählung sich auf die mit bestimmten Mengen der Bakterienaufschwemmung angefertigten, gefärbten Ausstrichpräparate bezieht und die dem Tiere einverleibte Infektionsmenge berechnet wurde. Wenn auch zuzugeben ist, daß dieses Verfahren in bezug auf Genauigkeit gegenüber dem oben erwähnten einen großen Fortschritt bedeutet und seine Ergebnisse der Wirklichkeit häufig nahekommen, so darf andererseits nicht übersehen werden, daß es sich auch hier um eine indirekte Bestimmung der Zahl des Infektionserregers handelt, wobei die Größe verschiedener Fehler nicht zu bemessen ist.

Nur eine Methodik, die uns das Mittel in die Hand gibt, eine einzelne Zelle (Keim) von ihrem Ausgangspunkte (Kultur) bis zur erfolgten Einverleibung in den Körper des Versuchstieres im Auge zu behalten, befähigt uns, die Mindestzahl von Einzelzellen einer pathogenen Keimart, die eben noch zur Krankheitserzeugung genügt, in möglichst exakter Weise festzustellen. Dieses Postulat dürfte zurzeit einzig mit Hilfe des Burrischen³⁾ Tuscheverfahrens zu erreichen sein. Wir haben daher unter Benützung des genannten Verfahrens eine Anzahl von Untersuchungen ausgeführt, deren Zweck war, die Mindestzahl von Zellen (Keimen) verschiedener Tuberkulosestämmen, die noch imstande ist, beim Meerschweinchen eine Infektion hervorzurufen, zu bestimmen. Obwohl diese Versuche noch nicht zu einem endgültigen Resultate geführt haben, so glaubten wir doch, in einer I. Mitteilung davon Kenntnis zu geben, einmal aus dem Grunde, weil die Weiterführung dieser Untersuchung erst nach einiger Zeit wieder aufgenommen werden kann, und

1) Selter, Deutsche med. Wochenschr. 1913. II. Teil. p. 2323.

2) l. c.

3) Burri, Das Tuscheverfahren als einfaches Mittel zur Lösung einiger schwieriger Aufgaben der Bakterioskopie. Jena (G. Fischer) 1909.

dann auch deshalb, weil dem einen von uns (Thaysen) nicht mehr die Möglichkeit geboten ist, an denselben teilzunehmen.

B. Ergebnisse bisheriger Versuche.

In der nachfolgenden Zusammenstellung seien kurz die hauptsächlichsten Resultate von bisherigen Infektionsversuchen bei Meerschweinchen wiedergegeben. Auf vollständige Berücksichtigung möglichst aller über diesen Gegenstand erschienenen Arbeiten und Mitteilungen ist dabei nicht Bedacht genommen worden; immerhin dürfte sie doch ein annähernd genaues Bild geben über den derzeitigen Stand der Frage.

Bei den ersten diesbezüglichen Versuchen wurde verschiedenartiges aus dem menschlichen und tierischen Körper stammendes, tuberkelbacillenhaltiges Material verwendet. Die Ermittlung der Zahl von Tuberkelbacillen, die dem Versuchstiere einverleibt worden sind, erfolgte durch Zählen unter dem Mikroskop der in einer abgemessenen, mit einem bestimmten Volumen Wasser verdünnten Menge des Prüfungsmaterials vorkommenden säurefesten Stäbchen. Auf diese Weise stellte z. B. Gebhardt¹⁾ fest, daß mit etwa 800 Bacillen ausnahmslos tödliche Tuberkulose bei Meerschweinchen eintrat, wenn die Bacillen durch Inhalation oder subkutan oder intraperitoneal einverleibt wurden. Dagegen versagte die Fütterung noch bei Verwendung von 10 und 20 Millionen. Preyss²⁾, der ebenfalls mit Sputum arbeitete, fand, „daß zur Erzeugung einer Inhalationstuberkulose bei Meerschweinchen die verschwindend kleine Menge von $\frac{1}{1000}$ mg Sputum mit etwa 40 Bacillen mehr als genügend ist. Die Inhalation der 3- bis 4-fachen Menge läßt fast unfehlbar Tuberkulose bei den Versuchstieren entstehen.“

Die folgenden Resultate sind mit Reinkulturen des Tuberkelbacillus erhalten worden, wobei, mit Ausnahme der Untersuchung Selters³⁾, bei der Dosierung der Impfmenge vom Gewicht des feuchten Tuberkelbacillenrasens ausgegangen wurde.

Römer⁴⁾ fand nach subkutaner Einverleibung von $\frac{1}{25000000}$ mg schwache Intrakutanreaktion nach 3 Monaten, aber keine Organtuberkulose; bei Rindertuberkelbacillen war bei $\frac{1}{100000000}$ nach 3 Monaten eine schwache Organtuberkulose festzustellen. Grüner und Hamburger⁵⁾ hatten bei $\frac{1}{1000000}$ und $\frac{1}{10000000}$ mg keine Resultate, während Ishio-Haga⁶⁾ einen positiven Fall mit $\frac{1}{1000000}$ konstatierte. Bei den Untersuchungen C. Fränkels und E. Baumanns⁷⁾, die die Virulenz von Tuberkelbacillen verschiedener Herkunft einer vergleichenden Prüfung unterzogen, betrug von 32 Stämmen der jeweilige noch infektiös wirkende Verdünnungsgrad der Aufschwemmung bei Einverleibung von 0,25—0,4 ccm (pro 100 g des Körpergewichtes der Tiere gelangte 0,1 ccm der betreffenden Aufschwemmung zur Anwendung):

bei 5 Stämmen = 1:1000 Millionen
 bei 5 Stämmen = 1:2000 Millionen
 bei 5 Stämmen = 1:4000 Millionen
 bei 8 Stämmen = 1:10 000 Millionen
 bei 5 Stämmen = 1:50 000 Millionen
 bei 4 Stämmen = 1:100 000 Millionen

1) l. c.

2) l. c.

3) l. c.

4) Römer, Beitr. z. experim. Therapie. 1903. Heft 6. p. 1.

5) Grüner u. Hamburger, Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. Bd. 17. Heft 1.

6) Zitiert nach Selter, l. c.

7) Fränkel, C., u. Baumann, E., Zeitschr. f. Hyg. 1906. p. 247.

Sie berechneten ferner die Zahl der in 1 mg Tuberkelbacillenkultur vorkommenden Einzelindividuen mit 100 000 000. In bezug auf die noch zur Infektion führende Mindestzahl sprechen sie die Vermutung aus, „daß bei manchen Kulturen schon die Verpflanzung eines einzigen Keimes genügt, um eine Ansteckung mit allen ihren weiteren Folgen zustande kommen zu lassen“.

H. Findel¹⁾ stellte fest, daß 1 mg feucht abgewogener Kultur von Tuberkelbacillen etwa 35 Millionen Bacillen entspricht. Von den 83 erwachsenen Meerschweinchen, die zu Inhalationsexperimenten verwendet wurden und die Dosen von „20—290 000 Bacillen eingeatmet haben“, weisen alle Tiere, welche mehr als „62“ Bacillen erhalten hatten und die nicht vor dem 28. Tage an einer interkurrenten Krankheit zugrunde gingen, eine schwere, makroskopisch sichtbare Tuberkulose auf. Von 6 Tieren, die noch kleinere Dosen erhielten, 3 Tiere = „40“ und 3 Tiere = „20“ Bacillen, hatte nur bei zweien die Infektion zu einer makroskopischen Veränderung geführt. Es waren dies 2 Tiere, welche „20“ Bacillen erhalten hatten. „Für junge Meerschweinchen genügt wahrscheinlich ein einziger Bacillus zur Infektion.“ Seine Fütterungsversuche, bei welchen Dosen von „19 100—382 000“ Bacillen zur Anwendung kamen, fielen sämtlich negativ aus, d. h. bei keinem der Tiere wurde irgendein Befund erzielt, der auf Tuberkuloseinfektion hätte schließen lassen. Selter²⁾, der, wie wir bereits früher anführten, die Zahl der Bacillen in jedem Versuch durch „Zählung“ ermittelte, bemerkt zu der Frage über die in 1 mg vorkommenden Einzelindividuen: „Man kann annehmen, daß in 1 mg mindestens eine Milliarde Bacillen enthalten sind.“ Bei Injektionen von „100, 1000, 10 000 und 1 000 000 Bacillen konnten bei subkutaner, intraperitonealer und intravenöser Einverleibung keine wesentlichen Unterschiede bezüglich der Lebensdauer und der pathologisch-anatomischen Erscheinungen beobachtet werden. „Bei subkutaner Infektion gelang es, Meerschweinchen noch mit 10 Bacillen sicher zu infizieren. Durch Inhalation konnten Meerschweinchen ebenfalls mit etwa 10 Bacillen infiziert werden.“

Eine Reihe von Untersuchungen mit anderen Versuchstieren, wie namentlich Kaninchen, Ratten, Mäusen etc., ist ausgeführt worden, um bei diesen Tieren die Mindestmenge die noch zur Infektion führt, zu ermitteln. Die hierbei angewandten Arbeitsverfahren waren dieselben wie die bei den Meerschweinchenversuchen.

Zusammenfassend ergibt sich nun aus den obigen Ausführungen, daß mit den bisher zur Lösung der uns hier beschäftigenden Frage verwendeten Prüfungsverfahren beinahe ausnahmslos Ergebnisse erhalten wurden, die die Ansicht erwecken, es genüge zur Herbeiführung einer Tuberkuloseinfektion beim Meerschweinchen ein einziger Bacillus oder einige wenige (10—20).

C. Eigene Versuche.

Arbeitsmethodik.

Von der zu prüfenden Tuberkelbacillenkultur wurde jeweilen eine kleine Oese Material mit ca. 10 ccm steriler Kochsalzlösung im Achatmörser unter aseptischen Kautelen verrieben. Da es trotz stundenlangen Verreibens nicht gelingt, eine Aufschwemmung zu erhalten, in welcher die

1) Findel, H., Zeitschr. f. Hyg. 1906. p. 247.

2) l. c.

Organismen gleichmäßig und einzeln verteilt sind — stets finden sich noch Klümpchen von mehreren aneinander haftenden Zellen — so ließen wir die Bakterienaufschwemmung, nachdem sie ca. 5 Min. mit dem Pistill bearbeitet worden war und nach Ueberführung in ein steriles Reagensglas, einige Stunden zum Sedimentieren stehen. Nach dieser Zeit wurden auf einem gründlich gereinigten und in der Flamme sterilisierten Objektträger mittels einer großen Oese 3—4 Tropfen steriler Tusche nebeneinander aufgetragen und zunächst ein Tropfen mit einer kleinen Oese Material aus der überstehenden Partie der Bakterienaufschwemmung in üblicher Weise beschickt, dann mittels der kleinen Oese Material des ersten Tuschetropfens in den zweiten, von diesem in den dritten usw. übergeführt, bis die jeweils passende Verdünnung erreicht war, was an Hand von Kontrollpünktchen festgestellt wurde. Mittels einer kleinen Zeichnungsfeder (Tuschefeder) wurden dann in analoger Weise, wie bei Ermittlung des passenden Verdünnungsgrades der Bakterienaufschwemmung in Tusche, mit Material der letzteren auf gut abgekühlte Gelatineplatten Pünktchen angefertigt, dieselben mit sterilen, runden Deckglasplättchen von ca. 3 mm Durchmesser, deren Rand durch Erhitzen in der Flamme stumpf gemacht war, zugedeckt und die Keimzahl der einzelnen Pünktchen bestimmt. Für die Zählung benutzten wir das Oelimmersionssystem. Das Oel wurde dann, bevor wir die Plättchen mit den anhaftenden Keimen abhoben, mit Toluol entfernt. Zur Vornahme der Impfung wurden die Tiere chloroformiert. Als Einführungsstelle bedienten wir uns in allen Fällen der seitlichen Bauchgegend. Im Umkreise eines Fünffrankenstückes wurden die Haare abrasiert, die Haut mit Sublimat (1:1000) und sodann mit Alkohol desinfiziert. Je nachdem nun die Impfung subkutan oder intraperitoneal zu erfolgen hatte, wurde nur die Cutis oder die Bauchdecken und das Peritoneum parietale durchschnitten und das Impfmateriel, bestehend aus dem Glasplättchen mit den anhaftenden und abgezählten Tuberkelbacillen, mittels Pincette eingeführt, die Wunde sorgfältig zugenäht und mit in Kollodium getränkter Watte bedeckt. Meist schon nach wenigen Tagen war sie verwachsen.

1. Versuchsreihe.

In einer ersten Versuchsreihe war beabsichtigt, die Mindestzahl von Tuberkelbacillen, die bei Meerschweinchen zur Infektion führt, an einem möglichst virulenten Stamme zu ermitteln. Mit der zu diesem Zwecke vorgesehenen Kultur, „Tbc. humanus“, wurde zunächst ein Meerschweinchen geimpft und der aus dem umgestandenen Tiere gezüchtete Stamm zu diesen Infektionsversuchen benutzt. In Anlehnung an die von den bisherigen Autoren beinahe ausnahmslos vertretene Ansicht, daß zur Infektion nur ein oder einige wenige Keime erforderlich seien, wählten wir als Impfdosen relativ kleine Keimzahlen. Verschiedene Erwägungen, wie namentlich auch der Wunsch, bereits bei dieser ersten Versuchsreihe zu positiven Resultaten zu gelangen, ließen es uns aber doch als ratsam erscheinen, mit der kleinsten Menge nicht unter 10 Zellen zu gehen. Am 7. IX. 11 wurden nun vorerst 4 und am 12. XII. 11 dann weitere 16 Tiere geimpft. Die benutzte Tuberkelbacillenkultur (auf Glycerinagar) war im ersteren Falle 3 Wochen alt und direkt aus dem Tierkörper isoliert worden, während jene des Versuches vom 12. XII. 11 3½ Wochen zählte und die zweite Ueberimpfung der am 7. IX. 11 verwendeten Kultur darstellte. Von den an den beiden Tagen geimpften 20 Meerschweinchen haben 19 Tiere genau abgezählte Mengen von

Stäbchen und eines, das Kontrolltier, 0,5 ccm der Ausgangsaufschwemmung intraperitoneal erhalten. Die den einzelnen Tieren einverleibte Anzahl von Bacillen betrug:

2 Meerschweinchen	= 10 Zellen	1 Meerschweinchen	= 48 Zellen
1 "	= 12 "	1 "	= 49 "
1 "	= 14 "	2 "	= 52 "
2 "	= 21 "	1 "	= 70 "
1 "	= 25 "	1 "	= 71 "
1 "	= 27 "	2 "	= 75 "
1 "	= 42 "	1 "	= 76 "
1 "	= 45 "		

In Tabelle I finden sich die Ergebnisse dieser ersten Versuchsreihe zusammengestellt, und zwar nach den Impfmengen geordnet. Wie aus dieser Uebersicht zu entnehmen ist, starb das Kontrolltier bereits nach 34 Tagen an ausgedehnter Miliartuberkulose der Abdominalorgane. Damit hatte sich der zu den vorliegenden Versuchen verwendete Tuberkulosestamm als hochgradig pathogen erwiesen. Leider hatten wir zur Zeit der Impfung mit einer ruhrartigen Erkrankung in unserem Meerschweinchenbestand zu kämpfen, der, wie aus der Zusammenstellung hervorgeht, auch einige der Versuchstiere schon frühzeitig — nach 13, 18, 28 und 41 Tagen — zum Opfer fielen. Ihre Sektionsbefunde waren stets negativ, d. h. es konnten bei keinem dieser Tiere irgendwelche Anzeichen von Tuberkulose konstatiert werden. Erst ein 49 Tage nach erfolgter Impfung ebenfalls mit ruhrartigen Erscheinungen umgestandenes Meerschweinchen, das mit 71 Bacillen geimpft war, ergab einen positiven Befund, indem Leber und Milz schwach vergrößert und mit hirsekorn-großen Knötchen besetzt waren. In den Knötchen der Milz gelang es auch, säurefeste Stäbchen nachzuweisen. Da außer in den beiden genannten Organen keine Knötchen aufgefunden werden konnten und demzufolge die hier konstatierte Infektion noch nicht alt war, so darf es wohl als sicher gelten, daß sie auf die von uns eingeführten Organismen zurückzuführen ist. Alle noch übrigen Versuchstiere, von denen das eine nach 89, ein weiteres nach 92, ein drittes nach 118 und ein viertes nach 273 Tagen eingegangen, ferner 3 nach 391 und 6 nach ca. 3 Jahren getötet worden sind, erwiesen sich bei der Sektion als vollkommen frei von Tuberkulose.

Es drängt sich nun die Frage auf, ob die Zahl von 71 Bacillen, die in der vorliegenden Versuchsreihe bei einem Meerschweinchen zur Infektion geführt hat, als infektiöse Mindestmenge zu gelten habe. Bei Vergegenwärtigung nachstehender Momente wird man dieselbe ohne weiteres mit „nein“ zu beantworten haben. Zunächst ist zu berücksichtigen, daß noch 4 Tiere annähernd diese Zahl von Bacillen (1 Tier = 70, 2 Tiere, = 75 und 1 Tier = 76) erhalten haben, ohne an Tuberkulose zu erkranken, trotzdem bei zwei dieser Meerschweinchen das Körpergewicht nicht einmal die Hälfte von dem eine Tuberkuloseinfektion aufweisenden Tiere betrug. Dann ist aber besonders zu beachten, daß das hier in Frage stehende Meerschweinchen 49 Tage nach der Impfung unter ruhrartigen Erscheinungen einging. Mit größter Wahrscheinlichkeit ergibt sich daher schon aus diesem Tatbestand, daß die bei Tier No. 16 eingetretene Tuberkuloseinfektion nur deshalb möglich gewesen ist, weil dieses Tier infolge der intestinalen Erkrankung in seiner Widerstandskraft geschwächt war. Eine weitere Bestätigung dessen, daß 71 Bacillen des vorliegenden Tuberkulosestammes bei gesunden Meerschweinchen nicht zur Infektion führen, dürften auch die Ergebnisse der folgenden Versuchsreihe bilden.

Tabelle I.
Stamm „Tbc. humane“.
Datum der Impfung: 7. IX. 11 (☉) und 12. XII. 11.

Laufende No. des Tieres	Applikations- modus	Impfmenge Anz. Stäbchen	Gewicht des Tieres in g	Gestorben (+) oder getötet nach	Sektionsbefund	Bemerkungen	
1		10	295	+	41 Tagen	Organe frei von Tbc. Glasplättchen in fibrinöser Membran am gr. Netz angelagert	Todesursache: ruhrartige Infektion
2		10	342	+	13	"	desgl.
3		12	332	+	18	"	desgl.
3		14	295	+	273	"	Todesursache unbekannt
5		21	226	get.	391	"	
6		21	300	"	391	"	
7		25	270	+	41	"	Todesursache: ruhrartige Infektion
8		27	362	get.	391	"	
9		42	590	"	ca. 3 Jahren	"	desgl.
10		45	600	+	28 Tagen	"	Todesursache unbekannt
11		48	206	+	118	"	
12		49	315	get.	ca. 3 Jahren	"	
13		52	380	"	3	"	
14		52	500	"	3	"	
15		70	270	+	89 Tagen	"	
intraperitoneal							
16		71	635	+	49	"	Leber und Milz vergrößert und mit Knötchen (Tuberkeln) besetzt. Säurefeste Stäbchen nachweisbar. Lungen normal
17		75	256	+	92	"	Organe frei von Tbc. Glasplättchen in fibrinöser Membran
18		75	510	get.	ca. 3 Jahren	"	
19		76	635	"	3	"	
Kontrolltier, geimpft mit 0,5 ccm der Ausgangsaufschwemmung.							
20	ip.	505	+	34 Tagen	Tuberkulose des großen Netzes, der Leber und der Inguinaldrüsen. Lungen normal		

2. Versuchsreihe.

Außer dem schon in der ersten Versuchsreihe verwendeten Stamme, „Tbc. humanus“, der inzwischen alle 6—8 Wochen auf Glyzerinagar weitergezüchtet wurde, bedienten wir uns noch 2 weiterer Stämme, bezeichnet „Coxitis tuberculosa“ und „Nierentuberkulose“. Diese beiden¹⁾ sind aus chirurgischem Material des Menschen mittels Meerschweinchenpassage gewonnen und seither (mehrere Monate) ebenfalls in Glyzerinagar, bei in Intervallen von 6—8 Wochen erfolgter Ueberimpfung, gehalten worden.

Als Impfmenge wählten wir nun ca. 100—300 Zellen, die sowohl intraperitoneal wie auch subkutan gegeben wurden.

Eine erste Impfung mit einer 3-wöchentlichen Kultur des Stammes „Coxitis tuberculosa“ fand am 18. I. 13 statt. Es wurden im ganzen 8 Meerschweinchen geimpft, 4 intraperitoneal und 4 subkutan. Mit Ausnahme der Impfmenge des Kontrolltieres, die 0,5 ccm der Bakterienaufschwemmung (2 kleine Oesen in 10 ccm steriler Kochsalzlösung) betrug und subkutan gegeben wurde, war die Zahl der Bacillen jeder Dosis genau ermittelt worden. Sie betrug:

- a) bei den subkutan geimpften Tieren: 107, 111 und 256;
- b) bei den intraperitoneal geimpften: 110, 128, 315 und 343 Zellen.

Am 5. II. 13 wurden sodann mit einer 3-wöchentlichen Kultur des Stammes „Nierentuberkulose“ ebenfalls 8 Tiere geimpft, wovon 5 subkutan und 3 intraperitoneal. Die Impfmenge bei dem Kontrolltier betrug wieder 0,5 ccm der Bakterienaufschwemmung und wurde subkutan gegeben. Die 7 übrigen Tiere haben folgende Dosen erhalten:

- a) die subkutan geimpften: 99, 111, 302 und 326;
- b) die intraperitoneal geimpften: 106, 309 und 316 Zellen.

Am 19. II. 13 erfolgte sodann eine Impfung von 9 Tieren mit einer ca. 3-wöchentlichen Kultur des Stammes „Tbc. humanus“. Es haben dabei erhalten:

- a) 4 Tiere subkutan: 110, 116, 307 und 316;
- b) 4 Tiere intraperitoneal: 112, 121, 298 und 311 Zellen, ferner das Kontrolltier die übliche Menge von 0,5 ccm der Ausgangsaufschwemmung.

Die Ergebnisse dieser 3 Parallelversuche sind in den nachfolgenden Tabellen II, III und IV zusammengestellt. Es enthält Tabelle II die Resultate des Stammes „Coxitis tuberculosa“, Tabelle III jene des Stammes „Nierentuberkulose“ und Tabelle IV endlich diejenigen des Stammes „Tbc. humanus“.

Wie aus diesen Befunden hervorgeht, sind die 3 Kontrolltiere der Tuberkuloseinfektion erlegen. Nach der verschieden langen Zeitdauer zu schließen, nach der der Tod bei diesen Meerschweinchen eintrat, differiert das pathogene Vermögen der 3 Tuberkulosestämmen nicht unwesentlich, indem mit „Coxitis tuberculosa“ nach 77, mit „Nierentuberkulose“ nach 343 und mit „Tbc. humanus“ nach 49 Tagen das betreffende Tier einging. Als kräftig pathogen wirkende Stämme können demnach „Tbc. humanus“ und „Coxitis tuberculosa“ gelten, während der Stamm „Nierentuberkulose“, gegenüber den beiden anderen, eine ausgesprochen geringere Virulenz besitzt.

Was nun das Verhalten der 22 Versuchstiere anbetrifft, so sind 2 davon (No. 30 und 34) schon innerhalb der ersten 10 Tage nach der Impfung (No. 30 nach 5 und No. 34 nach 8 Tagen) umgestanden. Alle

1) Die beiden Kulturen wurden uns seinerzeit vom Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Bern (Direktor Prof. Dr. W. Kolle) durch Vermittlung des Herrn Dr. Tomarkin, Abteilungsvorsteher am genannten Institut, gütigst überlassen.

Tabelle II.

Stamm: Coxitis tuberculosa. 18. I. 13.

Laufende No. des Tieres	Applikations- modus	Impf- menge Anzahl Stäbchen	Gewicht des Tieres g	Gestorben (+) oder getötet nach	Sektionsbefund	Bemerkungen
21	subkutan	107	378	†	Organe frei von Tuberkulose	Todesursache unbekannt
22	"	111	418	†	Am Dickdarm bohnen großer verkäster Knoten. Leber und Milz zeigen einige stechnadelkopfgroße Knötchen. Milz wenig vergrößert. Inguinaldrüsen und übrige Organe normal. Säurefeste Stäbchen nicht nachzuweisen	Mit Knötchenmaterial aus Leber, Milz und Dickdarm von Tier No. 22, ein weiteres Meer-schweinchen subkutan geimpft am 28. IV. 13. Dasselbe starb am 5. V. 13. Sektion ohne Befund
23	"	256	387	†	Organe frei von Tuberkulose. Eitriger Abszeß unter dem Herz	Präparate aus dem Abszeß ergeben Streptokokken
24	intraperitoneal	110	572	†	Organe frei von Tuberkulose	Todesursache unbekannt
25	"	128	622	†	" " " " " "	Todesursache nicht festzustellen
26	"	315	393	†	An der Injektionsstelle Abszeß. Glasplättchen mit eitriger Flüssigkeit in fibrinöser Membran eingeschlossen. Keine säurefesten Stäbchen nachweisbar. Milz schwach vergrößert	Todesursache?
27	"	343	515	†	Organe frei von Tuberkulose. Glasplättchen am Netz angelagert und mit fibrinöser Membran umgeben	Todesursache nicht festzustellen

Kontrolltier, geimpft mit 0,5 ccm der Bakterienaufschwemmung.

28	subkutan	437	†	77 Tagen	Inguinaldrüsen verkäst, Milz und Leber dicht mit hirse-hankorngrößen Knötchen besetzt. Säurefeste Stäbchen nachweisbar. Lungen normal
----	----------	-----	---	----------	---

Tabelle III.

Stamm: Nierentuberkulose. 5. II. 13.

Laufende No. des Tieres	Applikations- modus	Impf- menge Anzahl Stäbchen	Gewicht des Tieres g	Gestorben (+) oder getötet nach	Sektionsbefund	Bemerkungen
29	subkutan	99	305	get. ca. 2 1/2 Jahren	Organe frei von Tuberkulose	Todesursache nicht festzustellen
30	"	111	325	† 5 Tagen	" "	
31	"	302	500	get. ca. 2 1/2 Jahren	" "	
32	"	326	348	† 60 Tagen	Organe frei von Tuberkulose; Leberinfarkt	
33	intraperitoneal	106	265	† 40 Tagen	Organe frei von Tuberkulose; Leberver- härtung	
34	"	309	535	† 8 Tagen	Organe frei von Tuberkulose; an der In- jektionsstelle größer, in Heilung be- griffener Abszeß	
35	"	316	332	† 656 Tagen	Organe frei von Tuberkulose; Glasplätt- chen am großen Netz angelagert in fibrinöser Membran	

Kontrolltier, geimpft mit 0,5 ccm der Bakterienaufschwemmung.

36	subkutan	—	330	† 343 Tagen	Inguinaldrüsen hyalin käsig. Retroperi- tonealdrüsen linsengroß, hyalin. Retro- sternaldrüse erbsengroß, hyalin. Milz 4mal vergrößert, mit hanfkorngroßen ver- kästen Knötchen. Leber mit hanfkorn- großen Knötchen. Lungen hauptsächlich in den Unterlappen hirsekorngroße Tu- berkel. Nachweis säurefester Stäbchen	
----	----------	---	-----	-------------	--	--

Tabelle IV.
Stamm: Tbc. humanus. 19. II. 13.

Laufende No. des Tieres	Applikations- modus	Impf- menge Anzahl Stäbchen	Gewicht des Tieres g	Gestorben (+) oder getötet nach	Sektionsbefund	Bemerkungen	
37	subkutan	110	487	†	41 Tagen	Organe frei von Tuberkulose	Todesursache nicht festzustellen
38	"	116	288	†	46 Tagen	Organe frei von Tuberkulose; beide Glasplättchen an der Impfstelle eingekapselt	" "
39	"	307	451	†	70 Tagen	Glasplättchen an der Impfstelle. Inguinaldrüsen normal. Milz 3mal vergrößert und dicht besetzt mit hanfkorngrößen Knötchen. Leber zeigt ebenfalls einige Knötchen von Hanfkorngröße. Am Dickdarm direkt unter den Glasplättchen ein erbsengroßer, verkäster Knoten. Säurefeste Stäbchen nicht nachzuweisen	Mit Material von Knötchen der Milz von Tier No. 39 wird ein weiteres Meerschweinchen geimpft. Dasselbe blieb gesund
40	"	316	426	†	84 Tagen	Frei von Tuberkulose; Glasplättchen an der Impfstelle eingekapselt	Todesursache nicht festzustellen
41	intraperitoneal	112	447	†	get. ca. 2 Jahren	Frei von Tuberkulose	
42	"	121	351	†	get. ca. 2 Jahren	" "	
43	"	298	348	†	257 Tagen	" "	
44	"	311	391	†	391 Tagen	" "	Todesursache: ruhrartige Infektion
45	subkutan	—	310	†	49 Tagen	Beide Inguinaldrüsen verkäst. Milz 2mal vergrößert und dicht mit Tuberkeln besetzt. Säurefeste Stäbchen nachweisbar	

Kontrolltier, geimpft mit 0,5 ccm der Bakterienaufschwemmung.

Kontrolltier, geimpft mit 0,5 ccm der Bakterienaufschwemmung.

übrigen Tiere waren mindestens 3 Wochen nach der Impfung am Leben. Eine Gegenüberstellung der Daten über die Zeitdauer, die von der Impfung bis zum Tode bei den Versuchstieren einerseits und ihren Kontrolltieren anderseits verstrich, weist folgendes Verhalten auf: Bei Stamm „Coxitis tuberculosa“ haben von den 7 Versuchstieren 5 länger als das Kontrolltier (77 Tage) gelebt; die beiden anderen starben, das eine nach 23, das andere nach 63 Tagen. Bei dem wenig virulenten Stamme „Nierentuberkulose“ sind von den 7 Versuchstieren 4 früher als das Kontrolltier (343 Tage) eingegangen, und zwar nach 5, 8, 40 und 60 Tagen. Und bei Stamm „Tbc. humanus“ starben von 8 Tieren 2 früher als das Kontrolltier (nach 49 Tagen), ein Meerschweinchen nach 41 und das zweite nach 46 Tagen.

Bei den Sektionen der 22 Versuchstiere wurden bei 2 Meerschweinchen (No. 22 und 39, das erstere mit 111 Bacillen des Stammes „Coxitis tuberculosa“, das andere mit 307 Bacillen des Stammes „Tbc. humanus“ geimpft) in einigen Organen dubiose Knötchen angetroffen. In beiden Fällen fiel indessen das Ergebnis der näheren Prüfung auf das Vorhandensein einer Tuberkuloseinfektion negativ aus. Es konnte somit bei keinem der 22 Meerschweinchen, die mit Mengen, welche zwischen 99 und 343 Zellen variierten, geimpft waren, eine Tuberkuloseinfektion konstatiert werden.

Zusammenfassung.

Bei der Prüfung der Frage über die Mindestzahl von Tuberkelbacillen, welche bei Meerschweinchen zur Infektion führt, wurde die Impfdosis mit Hilfe des Burrischen Tuscheverfahrens bestimmt, das ein absolut genaues Abmessen (Zählen) der Bakterien gestattet und es ferner möglich macht, die unter dem Mikroskop gezählten Organismen zur Impfung zu verwenden.

In einer ersten Versuchsreihe haben 19 Meerschweinchen von einer hochgradig pathogenen Kultur Dosen erhalten, welche zwischen 10—76 Bacillen variierten. Nur bei einem, mit 71 Zellen geimpften Tiere, das nach 41 Tagen unter ruhrartigen Erscheinungen eingegangen war, konnte eine Tuberkuloseinfektion konstatiert werden.

Bei einer zweiten Versuchsreihe mit Kulturen von 3 Tuberkulosestämmen, worunter 2 sehr pathogenen, wurden 22 Tiere mit Mengen, die zwischen 99—343 Bacillen differierten, geimpft. Das Resultat fiel negativ aus, d. h. es ließ sich, außer bei den Kontrolltieren, in keinem Falle eine Tuberkuloseerkrankung feststellen. (Die beiden einzigen nicht ganz eindeutigen Sektionsbefunde ergaben bei der weiteren Prüfung keine Anhaltspunkte für die Annahme einer etwaigen Tuberkuloseinfektion.)

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse stehen demnach im Widerspruch mit der beinahe ausnahmslos vertretenen Ansicht, daß zur Tuberkuloseinfektion beim Meerschweinchen eine einzige oder einige wenige Zellen (10—20) genügen sollen. Dieses Divergieren der früheren Ergebnisse von unseren Befunden dürfte dadurch bedingt sein, daß die bei den älteren Untersuchungen angewandten Verfahren eine absolut genaue Ermittlung der Zahl von Bacillen, welche jeweilen den Versuchstieren einverleibt wurden, ausschlossen.

*Nachdruck verboten.***Beiträge zur Bekämpfung der Kleiderläuse in Kleidern.**

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.
(Direktor: Prof. Dr. Kiskalt).]

Von Dr. Alexander Friedmann, Assistenten am Institut.

Mit 4 Textfiguren.

Die Bedeutung, die die Bekämpfung der Kleiderlaus mit Ausbruch des Krieges für das Heer und die Bevölkerung gewonnen, veranlaßte uns, im Wintersemester 1914/15 eine Reihe von Untersuchungen über diesen Gegenstand anzustellen. Ueber die Hauptpunkte wurde schon in der Deutschen med. Wochenschrift, 1915, No. 6 und 14 berichtet (10, 10a). Hier soll die experimentelle Seite unserer Versuche ihren Platz finden. So erfreulich das Resultat der Fülle der neuerschiedenen Arbeiten auf diesem Gebiete ist, ein großer Teil derselben läßt uns aber über die Anordnung und den Hergang der Versuche nur ganz wenig erfahren, so daß ein richtiger wissenschaftlicher Vergleich unmöglich wird. Wir hielten es aus diesem Grunde für angebracht, unsere Experimente in dieser Form zu veröffentlichen.

Ueber den einzelnen Gegenstand dieser Experimente ist im Laufe des Jahres eine Reihe von Abhandlungen erschienen. Heymann (7) behandelt in seiner Arbeit die Frage der Anwendung strömenden Wasserdampfes und trockener Hitze zur Abtötung von Läusen und Nissen. „Strömender Wasserdampf von 100° vernichtet in längstens $\frac{1}{2}$ Stunde nicht nur alle Läuse, sondern auch Eier (Nissen).“ Seine Resultate mit trockener Hitze sind:

Bei 45° C starben ab in 3 Stunden Läuse und Larven

„ 50° C	„	„	„	1 $\frac{1}{2}$ Stunde	„	„	„	Nissen 1— $\frac{3}{4}$ Stunde
„ 55° C	„	„	„	$\frac{3}{4}$ Stunde	„	„	„	„
„ 60° C	„	„	„	20—30 Min.	„	„	„	„ $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ „
„ 80° C	„	„	„	5—10 „	„	„	„	„ 15 Min.

Als Grundlage für die praktische Maßnahme schlägt Heymann auf Grund seiner Untersuchungen eine Hitzeeinwirkung von mindestens 60° C 1 Stunde lang vor. Diese Angaben sind in die Literatur übergegangen und in die Veröffentlichungen des Kaiserlichen Gesundheitsamtes vom 5. Mai 1915, No. 18, übernommen (20).

Wülker (22), der auch Versuche nach dieser Richtung angestellt hat, erhielt bei 55° unfehlbare Abtötung in 1—2 Minuten, bei 50° nach 10 Minuten. Die Abtötung der Nissen bei 60° C soll anscheinend durch Gerinnung geschehen. Man ersieht daraus, wieviel es auf die Anordnung der Versuche ankommt, und wie sehr eine ganz eingehende Beschreibung notwendig ist.

Sehr strittig ist noch bis auf heutigentags die Frage der seidenen Wäsche. Die Mitteilungen aus dem Felde gehen so ganz auseinander. Zum Beispiel behaupten mir gutbekannte Offiziere, mit Seidenwäsche sehr gute Erfahrungen gemacht zu haben. Interessant ist die Mitteilung von Stabsarzt Dr. Otto Melzer in Freiburg (15), der unter anderem folgendes berichtet: „Was zunächst das Tragen seidener Wäsche anlangt, so kann ich von mir und zahlreichen Offizieren berichten, daß wir stets von dem Ungeziefer verschont worden sind. Ein Befallenwerden war bei dem engen Zusammenleben mit Mannschaften in den Unterständen und Baracken sehr leicht möglich.“

J. Versluys (21) glaubt, daß den Läusen Seide als Aufenthaltsort nicht zusagt. Den Einwendungen von Marschalko (16) und Wülker muß erwidert werden, daß Seidenwäsche nicht auf ewige Zeiten vor Läusen schützt. Selbstverständlich muß auch Seidenwäsche oft gewechselt werden. Hiermit fallen auch die Gegenbeweise von Albert Hase weg, der Nissen auf Seidenhemden verlauster Russen (sicher lange getragen!) gefunden hat. Die Versuche Hases (6) zeigen aber deutlich, wie unsere Versuche, die durch andersartige Experimente ausgeführt wurden, daß die Läuse eine ausgesprochene Abneigung gegen Seide haben. Die Tatsachen, daß Läuse unter denselben Umständen und Temperaturverhältnissen auf Wolle binnen 24 Stunden Nissen ablegen und auf Seide mitunter erst nach einigen Tagen, bekräftigen diese Annahme.

Die Hauptvertreter bei der Entlausung von Kleidern und Wohnungen sind die schwefelige Säure und der Schwefelkohlenstoff zur Erzeugung von schwefeliger Säure. Versuche mit Benzindämpfen in einem gut abgedichteten Fasse sollen sich auch gut bewährt haben (18).

Auf gasförmigen (unverbrannten) Schwefelkohlenstoff, wie auch auf schwefelige Säure an Stelle des vorgeschriebenen Formaldehyds als Mittel zur Bekämpfung der Läuse und des Fleckfiebers hat Prof. K. Kisskalt bereits vor dem Kriege aufmerksam gemacht (10c, 9c).

In dem Ministerialerlaß vom 27. Januar 1915, M 10 282, wird schwefelige Säure und Schwefelkohlenstoff (als Ausgangsprodukt von schwefeliger Säure) empfohlen. Ueber den Schwefelkohlenstoff als solchen wird folgendes mitgeteilt: „Zur Entlausung großer Mengen von Kleidungsstücken kann man auch die Dämpfe unverbrannten Schwefelkohlenstoffes oder des Benzins anwenden. Bei diesem Verfahren werden die Gegenstände am besten in eine mit Blech ausgeschlagene Kiste oder in ein Faß gelegt, dessen Fugen zuvor sorgfältig abgedichtet worden sind. Auf den Boden des Behälters wird etwas Schwefelkohlenstoff oder Benzin geschüttet, sodann werden die mit derselben Flüssigkeit besprengten Sachen in mehreren Schichten übereinander gelegt, worauf der Deckel der Kiste oder des Fasses möglichst dicht abgeschlossen wird.“

Eine nähere Angabe über die Menge des Schwefelkohlenstoffes, die nötig wäre für 1 cbm Raum, wird nicht angegeben, obwohl für die schwefelige Säure genaue Angaben gemacht werden.

Das Verhalten des Schwefelkohlenstoffes im Verhältnis zu anderen Abtötungsmitteln vergleicht in seiner Arbeit Arthur Felix (13). Nach diesen Versuchen gestaltet sich die Abtötung:

1. Schwefelkohlenstoff:	Abtötung erfolgt nach	6 Min.
2. Trichloräthylen:	„ „ „	30 „
3. Aethyläther:	„ „ „	30 „
4. Formalin:	„ „ „	42 „
5. Anisol:	„ „ „	45 „
6. Ammoniak:	„ „ „	60 „
7. Benzin:	„ „ „	70 „
8. Alkohol:	„ „ „	70 „
9. Essigsäure:	„ „ „	120 „

Andere Zahlen erhält Wülker (22), der Aethyläther, Ammoniak, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Xylol, Tabakrauch und schwefelige Säure in ihrer Wirkung auf Läuse (keine Nissen) vergleicht. Demnach tötet Schwefelkohlenstoff wie Chloroform und Aethyläther Läuse erst in 30 Minuten.

Ueber die Mengenverhältnisse, die nötig sind, Läuse und Nissen abzutöten, haben wir für schwefelige Säure eine ganze Reihe

von Angaben. In den Veröffentlichungen des Kaiserl. Gesundheitsamtes vom 5. Mai 1915 werden bei Anwendung von schwefeliger Säure als Gas 5 kg auf 100 cbm = 50 mg pro Liter angegeben; bei Anwendung von Schwefelkohlenstoff zum Verbrennen zu schwefeliger Säure 4 kg Schwefelkohlenstoff auf 100 cbm = 66,3 mg pro Liter. Bei Anwendung von Stangenschwefel ist das Grassbergersche Verfahren übernommen worden (4): 5 kg Schwefel werden pro 100 cbm Raum verbrannt = 100 mg schwefelige Säure pro Liter.

Wie aus diesen Zahlen zu ersehen ist, bewegt sich die nötige Konzentration zwischen 50—60 mg pro Liter. Die 100 mg, die beim Grassbergerschen Verfahren angewandt werden, sind auf Rechnung des nicht ganz verbrannten Schwefels zu setzen. Nach den „Vorschriften für die Entlausung“, die in Heft 7 des „Praktischen Desinfektors“ veröffentlicht sind und von Dr. Rückenbergs stammen, werden 6 kg Schwefel auf 100 cbm = 120 mg SO_2 im Liter genommen.

Die Angaben, die über die Konzentration des Schwefelkohlenstoffes bei der Entlausung von Gegenständen gemacht worden sind, sind sehr spärlich. B. Nocht und J. Halberkann äußern sich darüber: „Schwefelkohlenstoff als solcher (nicht angezündet, nur verdunstet) ist ein altbewährtes Abtötungsmittel, das in einer Menge von 250 ccm auf 1 cbm Raum bei 2-stündiger Einwirkung auch auf Nissen sicher wirkt“ (17).

Nicht unerwähnt soll hier bleiben die Angabe von Kirstein (11), daß er mit Schwefelkohlenstoff gute Erfahrungen bei einer Konzentration von 2 Liter Schwefelkohlenstoff auf 1 cbm gemacht habe, eine Menge, die unnötig groß ist.

Unsere Untersuchungen haben ergeben, daß schon kleinere Mengen Schwefelkohlenstoff auf Läuse und Nissen tötend wirken. Der Vorzug des Schwefelkohlenstoffes gegenüber der schwefeligen Säure ist unbestritten die schonende Wirkung und die leichte Verdunstung. Auf die Feuersgefahr muß selbstverständlich aufmerksam gemacht werden, aber die Gefahr ist nicht so groß, wie sie oft angenommen wird.

Nach unseren Untersuchungen genügen 100—150 ccm Schwefelkohlenstoff pro Kubikmeter. Wir sind zu dieser Annahme gekommen, wie man aus dem experimentellen Teil der Arbeit ersehen kann, durch die Versuche, wonach bei 54 mg und 57 mg Schwefelkohlenstoff nach Einwirkungsdauer von 4—6 Stunden die Nissen sich noch entwickeln. Wir hielten deshalb die doppelte Menge für unbedingt notwendig, die dreifache Menge für erwünscht.

Die Tatsache, daß wir auch bei der Anwendung der schwefeligen Säure bei 45 mg und 43 mg keine Abtötung der Nissen gefunden haben, gibt uns Veranlassung, auf diesen Befund ganz besonders aufmerksam zu machen und erneuerte quantitative Bestimmungen in dieser Richtung anzuregen. Vielleicht erklären sich die vielen unvollständigen Entlausungen, die in Gefangenenlagern und in anderen Entlausungsanstalten vorgekommen sind, durch die zu geringe vorgeschriebene Konzentration.

Versuche mit heißem Wasserdampf.

Versuch I. Abtötungsversuch von Läusen mittels heißen Wasserdampfes.

Zur Durchführung der Versuche wurde der bekannte Ohlmüllersche Apparat zur Bestimmung der Sporenresistenz benutzt (Ohlmüller, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. 1893). Man kann so den

Vorgang sehr gut beobachten. Wie bei jedem weiteren Versuch wurden auch hier die Tiere, die Anwendung finden sollten, zunächst untersucht. Aus dem Glasbehälter, in welchem sie sich befanden, wurden die Läuse mit in Pincetten eingeklemmten, kleinen Wollstückchen, die in ihre Nähe gebracht wurden, herausgeholt und auf ein weißes Papier gelegt. Die Läuse müssen sich bewegen; auf den Rücken gelegt, müssen sie sich schnell umdrehen. Man achte auf den Gang und die Bewegung der Gliedmaßen. Nur mit gut befundenen Tieren wurden die Untersuchungen vorgenommen. Beim Hineinbringen der Läuse in den Apparat kann man beobachten, wie sie sich starr hinlegen, und der Tod scheint sofort einzutreten. Die heißen Dämpfe durchdringen die Tiere, und das mikroskopische Bild zeigt oft starke Risse in der Hautbekleidung. Es wurden Versuche von 5, 10 und 30 Minuten Dauer angestellt. In allen Fällen war der Erfolg ein sehr guter.

Dieselben Versuche wurden mit Nissen wiederholt. Die Nissen wurden vorsichtig aus den Gewebestücken herausgeholt. Am leichtesten bekommt man sie aus dem Stoffe heraus, wenn man ihn ganz zerfasert und die auf den einzelnen Fasern liegenden Eier mit einer feinen Schere voneinander trennt, dann mit spitzen Pincetten die letzten noch anhaftenden Fäserchen wegnimmt. Eine einfache mikroskopische Betrachtung ergibt, ob die Nissen ganz sind, ob sie Risse haben, und orientiert über den Stand der Entwicklung. Bei Zimmertemperatur kriechen sehr selten aus den Nissen Läuse aus — es sei denn, daß sie in schon weitentwickeltem Zustande aus den Kleidern herausgenommen worden sind. Die Güte des Materials hängt von der Zeit der Lagerung der Nissen in den Kleidern und der Temperatur ab. Die besten Ausbeuten von jeglichem Material erhält man, wenn man die Nissen in einen Brutschrank von 30—32° Wärme und 40—50 Proz. Feuchtigkeit stellt. Die Feuchtigkeit wurde durch Einstellen eines Wassergefäßes produziert und mit einem Hygrographen kontrolliert. 32° wurde gewählt, weil dies die Behaglichkeitstemperatur der menschlichen Haut ist (Rubner 19, Kisskalt 10b). Nach Rubner versteht man unter Behaglichkeits- und Unbehaglichkeitsgefühl die Grenzen der Temperatur, bei der keine Klage über Kälte und Wärme erhoben wird; und sie liegen etwas unter 32 und etwas über 33, etwa rund um ein Intervall von 2°. Bei dieser Temperatur kriechen dann die Läuse fast quantitativ aus, wenn nicht eine mechanische oder physikalische Schädigung schon vorher eingetreten war. Je nach ihrem Alter, in welchem sie in den Kleidern gefunden werden, kriechen sie bei dieser Behandlung nach 3, 4, 7, 10, 12 Tagen aus. Die Versuche wurden mit gefundenen Nissen angestellt; doch wurden später auch Zuchtungsversuche gemacht, die ergaben, daß sich bei dieser Temperatur die Entwicklung in 8—12 Tagen vollzieht; höhere Temperaturen, wie z. B. 37° C, beschleunigen die Entwicklung in dem erwähnten Brutschrank, tiefere verlangsamen sie. In den beiden Fällen ist aber die Ausbeute nicht so zufriedenstellend wie bei 30—32° C.

Die Nissen wurden auf kleine Wollstückchen in den Ohlmüller-schen Apparat gebracht und beobachtet. Die Versuche mit Nissen in heißem Wasserdampf ergeben, daß auch sie in allen Stadien der Entwicklung schon nach 5 Minuten Einwirkungsdauer abgetötet werden.

Versuch II.

In der städtischen Desinfektionsanstalt wurden vor einer regelmäßigen Desinfektion in den verschiedenen Kleidungsstücken Säckchen mit Nissen

und Läuse eingelegt und die Kleider in dem Desinfektionsapparat an den verschiedensten Stellen eingehängt. Die Desinfektion wurde von dem Desinfektor der Anstalt nach der üblichen Methode durchgeführt und dauerte ca. 3 Stunden. Nach beendeter Desinfektion zeigte es sich, daß die eingelegten 40 Läuse und 32 Nissen tot waren, während in einer Kontrolle aus 4 Nissen 3 Larven auskrochen.

Versuche mit heißer, trockner Luft.

Versuch I.

Die Versuche wurden auf dem heißen Wasserbade in dünnwandigen Reagensgläsern ausgeführt. Sowohl im Wasserbade als auch in den Reagensgläsern, in welchen die Läuse sich später befanden, wurde die Temperatur gleichzeitig beobachtet. Es wurde langsam erhitzt, bis die Temperatur aller Gläser längere Zeit 70° C zeigte; dann wurden die Läuse und Nissen in die auf 70° erhitzten Gläser hineingelegt. Nach 10, 20, 30 Minuten wurden die einzelnen Gläser mit dem Material herausgezogen und näher untersucht. Die 16 Läuse waren alle tot, die Nissen — 16 Stück — wurden in den Brutschrank bei 32° C und bei 45 Proz. Feuchtigkeit zur Beobachtung gestellt. Gleichzeitig wurde eine Kontrolle von 4 Nissen mitbeobachtet. Aus all den 16 Nissen ist im Laufe der Beobachtung von 24 Tagen keine Laus ausgekrochen, während von den Kontrollnissen schon nach 5 Tagen 3 Larven auskrochen und eine verkümmerte.

Versuch II.

Läuse und Nissen wurden bei diesem Versuch in Wollröllchen eingewickelt, so daß die Rollen das ganze Reagensglas ausfüllten. Sie waren oben und unten mit einem Faden abgebunden. Auch das Thermometer bekam eine wollene Umhüllung. Erst als das eingestellte Thermometer 70° konstant zeigte, wurden die Röllchen mit den eingelegten Materialien in die betreffenden Reagensgläser hineingeschoben. Nach 5, 10, 15 Minuten wurden die einzelnen Reagensgläser herausgeholt und ihr Inhalt untersucht. Die Läuse waren alle tot — braun verfärbt. Die Nissen wurden, wie bei Versuch I, mit einer Kontrolle in den Brutschrank gestellt. Aus keiner der Proben ist eine Laus ausgekrochen; in der Kontrolle waren alle 4 Nissen nach 3 Tagen aufgegangen.

Hier seien noch einige Versuche über das Verhalten von verschiedenen Pelzsorten beim Erhitzen in trockener Luft beigelegt. Die Versuche wurden mit Persianer Schafpelz und Opossum angestellt. Es zeigte sich, daß ein einmaliges Erhitzen auf 80° von allen Pelzsorten gut vertragen wurde. Bei wiederholtem Erhitzen — selbst nur bei 78° — waren mehrere geschädigt, z. B. eine Probe Opossum und eine Probe Persianer. Die Haare sind zwar noch gut, doch reißt das Leder leicht, z. B. in den Nähten. Recht widerstandsfähig, selbst gegen Temperaturen über 80°, haben sich Schafpelze gezeigt. Doch auch sie erlangen bei allzu langem und andauerndem Erhitzen eine gewisse Spröde. Schonend bei der Entlausung von Pelzen wirkt Schwefelkohlenstoff. (Darüber weiter.)

Insektenpulver und Läuse.

Fünf verschiedene Insektenpulver mit hochtönenden Namen und beigelegten Schreiben, in welchen die Wirkung gegen Läuse gepriesen wurde, lagen zur Untersuchung vor. Die mikroskopische Untersuchung und der Vergleich mit einem reinen Dalmatiner Insektenpulver, „garan-

tiert rein“, zeigte, daß dieses der Grundstoff auch der vorliegenden Proben war. Trotz alledem wurde ein jedes Pulver einer besonderen Prüfung unterzogen, um zu sehen, ob sie sich durch ihre Wirkung auf Läuse vielleicht doch voneinander unterscheiden. Die Methoden, die zur Untersuchung eingeschlagen wurden, waren:

1. In eine mit Filtrierpapier ausgelegte Petri-Schale wurden 6 gesunde Läuse hineingelegt, das Pulver recht dünn daraufgestreut, und die Schale offen stehengelassen.

Die Läuse krochen in dem Pulver stundenlang herum, ohne irgendwelche Anzeichen einer Vergiftung. Auch nach 2 Tagen lebten sie in dem verschiedensten Insektenpulver fort.

2. Die Schale war dick mit Insektenpulver bestreut. Darauf wurden 6 Läuse gesetzt. Die Tiere wateten stundenlang im Pulver herum, bis ihr Körper mit Insektenpulver so beladen war, daß sie an einer Stelle auf dem Rücken liegen blieben. Aber auch als Klumpen zusammengeballt, zeigten sie noch nach 2 Tagen Leben.

3. In einer Petri-Schale wurde die eine Hälfte mit Insektenpulver bestreut, die andere Hälfte freigelassen und darauf 6 Läuse gesetzt. Das Pulver übte keine besondere Anziehung auf die Läuse aus, sie lebten 3 Tage.

4. Das Insektenpulver wurde nur am Rande einer Petri-Schale gestreut, die Mitte war frei. Die Läuse durchwanderten die Schale, gingen von der Mitte auf den Pulverrand und kehrten zurück. Irgend eine Anziehung oder Anlockung durch das Pulver war nicht zu beobachten.

5. 6 Läuse wurden in Wolle eingewickelt und in einer Petri-Schale mit Insektenpulver tüchtig bestreut. Nach 24 Stunden wurden sie herausgenommen, sie waren vollständig gesund, der Geruch des Insektenpulvers war nicht imstande, die Läuse zu töten oder zu schwächen.

Läuse und Kleiderstoffe.

Die Tatsache, ob die Läuse wirklich einen Kleiderstoff bevorzugen oder meiden, war zur Zeit der Anstellung der folgenden Versuche eingehend noch nicht untersucht worden. Die Erfahrungen im Feldzuge haben uns aber gelehrt, daß Unterkleider aus Seide sehr oft Schutz gegen diese Plage gewähren. Es wurde daher eine Reihe von Versuchen mit Seide, Wolle, Leinen und Baumwolle angestellt. Zu diesem Zwecke wurden die zu prüfenden Stoffe in einer Petri-Schale verschieden geordnet, eine Reihe von Läusen hineingesetzt und zu verschiedenen Zeiten bei Tageslicht und im Dunkeln beobachtet. Die Art der Anordnung der einzelnen Stoffstücke veranschaulichen nebenstehende Zeichnungen:

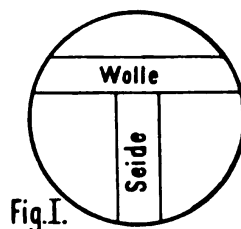


Fig. I.

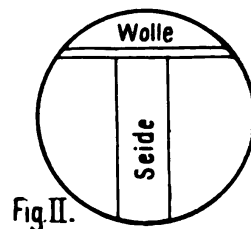


Fig. II.

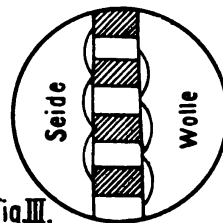


Fig. III.

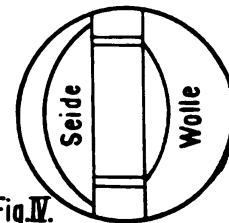


Fig. IV.

Fig. 1 zeigt zwei gleichgeschnittene Stückchen Seide und Wolle, T-förmig in der Petri-Schale geordnet. Die Läuse wurden in gleicher

Zahl an beiden Seiten der Schale hineingelegt. Um die Beweglichkeit der Läuse nicht durch das glatte Glas zu hindern, ist die Petri-Schale mit Filtrierpapier ganz ausgelegt. Die Tiere durchwandern die Schale, gehen bald auf die Wolle, bald auf die Seide, bald auf das Filtrierpapier, doch nach einiger Zeit suchen sie sich eine Ruhestelle aus, und das war meistens die Wolle.

Fig. 2 stellt eine Anordnung dar, wo die Wolle nur einen dünnen Streifen bildet, die Seide aber als breiter Streifen daliegt. Die Tierchen suchten sich den schmalen Streifen aus und verweilten da längere Zeit, während die Seide meistens gemieden wurde.

Fig. 3. Dieser Versuch sollte den Tieren auf kleine Entfernungen die Möglichkeit geben, ihren Wohnsitz zu wechseln. Die Läuse suchten sich meistens die Wollstückchen aus und besetzten diese.

Fig. 4 stellt ganz dünne Wollstreifen dar, die auf dem breiten Seidenstück liegen. Bei mehreren Versuchen hatten sich alle Läuse auf einen Wollstreifen gesetzt und die Platte ganz leer gelassen.

Die Beobachtungen zeigten folgendes Ergebnis:

Figur	Zahl der Läuse	Zeit der Beobachtung	Wolle	Seide	Umgebung	Bemerkungen
Fig. 2	6 Stck.	2 Std.	4	2	—	—
" 3	6 "	3 "	2	1	3	—
" 2	8 "	1 "	7	—	—	—
" 1	14 "	4 "	9	2	3	—
" 4	6 "	$\frac{1}{2}$ "	4	2	—	im Dunkeln
" 1	8 "	3 "	8	—	—	—
" 1	4 "	4 "	3	1	—	—
" 1	8 "	6 "	4	3	1	—
" 1	9 "	$\frac{1}{2}$ "	8	—	1	—
" 3	6 "	1 "	4	—	2	—
" 2	6 "	1 "	6	—	—	—
" 2	6 "	2 "	4	—	2	im Dunkeln
" 3	6 "	3 "	2	1	3	—
" 4	6 "	$\frac{1}{4}$ "	3	—	3	im Dunkeln
" 4	6 "	1 "	5	1	—	—

Bei Versuchen mit Baumwolle und Seide, Leinen und Seide nach derselben Methode traten die Unterschiede nicht so deutlich hervor wie bei Seide und Wolle.

Das Gelingen dieser Versuche hängt von der Frische der Tiere ab. Läuse, die schon einige Tage ohne Nahrung aufbewahrt wurden und träge im Kriechen sind, ebenso verletzte Tiere (Beobachtung durch das Mikroskop), nehme man nicht, da diese oft auf ein und derselben Stelle stundenlang, ohne sich weiter zu bewegen, stehenbleiben.

Am besten sind daher für solche Versuche Tiere, die nicht lange den Menschenkörper verlassen haben und noch am selben Tage zur Untersuchung gelangen. Um Bewegung der Läuse auf der Platte hervorzurufen, stelle man sie kurze Zeit ($\frac{1}{2}$ Stunde) in den Brutschrank von 32° C und 50 Proz. Feuchtigkeit. Stoßen und Vorwärtsrücken der Tiere durch Pincetten und Hölzchen sind zu unterlassen, da dadurch die Tiere meistens nicht ohne Verletzung davonkommen.

Diese Versuche wurden noch erweitert durch folgende schlagende Versuchsanordnung:

Zwei ineinandergehende Blechrahmen ermöglichten es, irgendeinen Stoff zwischen ihnen zu spannen, so daß man einen kleinen Kasten erhält, in dem der Boden mit dem gewünschten Stoff bespannt ist. Bei diesem Versuch wurde Seide genommen. In das Kästchen kamen 6 Läuse hinein, und der Kasten mit den Läusen wurde auf den Handrücken gestellt.

Die Läuse spürten durch die Seide die Nähe der Handfläche. Sie gingen eifrig auf und ab und gaben sich Mühe, durchzubeißen. Doch konnten Bisse durch die Seide nach längerer Beobachtungszeit nicht wahrgenommen werden, ebenso konnte eine Blutaufnahme im Darm nicht nachgewiesen werden. In das Kästchen wurde nun ein kleines Stückchen Wolle hineingelegt. Im Nu sammelten sich die Läuse auf dem Wollläppchen und gaben ihr Suchen auf der Seide auf.

Noch ein weiterer Versuch wurde über die Abneigung der Läuse gegen Seide angestellt. Eine Petri-Schale (10 cm Durchmesser) wurde mit Seidenstoff ausgelegt. In die Mitte wurde ein rundgeschnittenes Wollstückchen von 6 cm Durchmesser gelegt. 12 Läuse — 6 Männchen und 6 Weibchen — wurden in die Schale gebracht und in den Brutschrank gestellt. Die Läuse sammelten sich auf und unter der Wolle, ließen meistens die Seide unberührt und legten in der 1. Woche 80 Nissen auf die Wolle ab, keines auf die Seide. In der 2. Woche waren es wohl ebenso viel, doch konnte die Zahl nicht mehr festgestellt werden. Erst in der 3. Woche fanden sich 4 Nissen am Rande des Seidebelags. Diese Versuche sprechen alle deutlich für eine Abneigung der Läuse gegen Seide. Wie aus einigen Beobachtungen zu entnehmen ist, geht auch die Entwicklung der Nissen auf Seide langsamer als auf Wolle bei derselben Temperatur und Feuchtigkeit vor sich; doch sind die Versuche darüber noch nicht mit der nötigen Genauigkeit durchgeführt worden.

Schwefelkohlenstoff

Der Schwefelkohlenstoff wurde im Jahre 1796 von Lampadius als eine wasserhelle, stark lichtbrechende Flüssigkeit dargestellt. Seiner chemischen Zusammensetzung nach entspricht der Schwefelkohlenstoff der des kohlsauren Anhydrids. Die fabrikmäßige Darstellung wird durch Ueberleiten von Schwefeldampf über glühende Kohle ausgeführt. In der Natur befindet sich Schwefelkohlenstoff in geringer Menge im Steinkohlenteer. Der Schwefelkohlenstoff siedet bei $46,25^{\circ}\text{C}$ und hat bei 15°C ein spezifisches Gewicht von 1,270; bei -116°C erstarrt der Schwefelkohlenstoff zur festen Masse, die bei -113°C schmilzt. Der Dampf ist sehr leicht entzündlich und verbrennt an der Luft mit blauer Flamme unter starker Wärmeentwicklung zum Schwefeligsäure-Anhydrid und Kohlensäure. Er ist im Wasser nur sehr wenig löslich und wird von konzentrierter Schwefelsäure und Kaliumpermanganat bei gewöhnlicher Temperatur nicht angegriffen. In absolutem Alkohol und Aether ist der Schwefelkohlenstoff sehr leicht löslich. Besondere Verbreitung fand der Schwefelkohlenstoff dank seiner vorzüglichen Eigenschaft, Harze, Fette, Oele, Jod, Schwefel und Phosphor zu lösen. Seine konservierenden Eigenschaften wurden schon recht früh beobachtet, indem man Fleisch und Gemüse in einer Atmosphäre von Schwefelkohlenstoff aufbewahrte und damit gute Erfolge erzielte. Der Schwefelkohlenstoffgeruch der Nahrungsmittel verliert sich nach kurzer Zeit beim Liegen an der Luft. „Da der Schwefelkohlenstoff als etwas ölige, leicht entzündliche, an der Luft ziemlich rasch verdunstende, stechend riechende Flüssigkeit die Atmungsorgane angreift und auf tierische Pflanzenschädlinge als starkes Kontaktgift wirkt, so fand er auch bald Anwendung zur Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten, welche direkt durch tierische Schädlinge hervorgerufen wurden, wie beispielsweise durch den Engerling, den Kürbisranker und Melonenbohrer, durch die Wurzelmaden,

durch die Reblaus, Blattlaus und Schildlaus, durch die Rüben nematoden und andere tierische Schädlinge“ (8). Mit dem Auftreten der Reblaus, wo die verschiedensten Mittel zur Bekämpfung herangezogen und geprüft wurden, setzte sich der Schwefelkohlenstoff als das beste und billigste wirkende Mittel durch, und noch heute findet er großen Absatz in den verschiedensten Weinbaugebieten zur Desinfektion der Weinberge. Seit dieser Zeit ist der Schwefelkohlenstoff Gegenstand vieler Untersuchungen, und seine desinfizierende Kraft wurde von verschiedenen Autoren nachgeprüft und studiert. Kurzwelli Walter (12) zog in seiner Arbeit über die Widerstandsfähigkeit trockener Pflanzenorganismen gegen giftige Stoffe den Schwefelkohlenstoff neben Aether, Benzol und Chloroform heran. Die Versuche ergaben, daß der *Micrococcus prodigiosus* flüssigen Schwefelkohlenstoff 63 Tage aushielt, den dampfförmigen nur 2 Tage, flüssigen Aether 14 Tage, Aetherdampf nur 10 Tage. *Sarcina rosea* verträgt flüssigen Aether 14 Tage, Aetherdampf nur 10 Tage, flüssigen Schwefelkohlenstoff 7 Tage, dampfförmigen 4 Tage. *Aspergillus*-Sporen vertragen flüssigen Schwefelkohlenstoff 94 Tage; durch dampfförmigen werden sie schon nach 39 Tagen abgetötet, während Chloroform in Dampfform die *Aspergillus*-Sporen erst nach 121 Tagen und flüssiges Chloroform erst nach 365 Tagen noch nicht abtötet. Durch Aetherdampf sind *Aspergillus*-Sporen selbst nach 178 Tagen nicht abgetötet worden, und flüssiger Aether tötete sie selbst nach 642 Tagen nicht ab. Aus diesen Versuchen geht hervor, um wieviel überlegener der Schwefelkohlenstoff dem Aether, Benzol, Chloroform ist, und daß diese Medien im dampfförmigen Zustande viel intensiver wirken als in flüssigem.

Johann Bolle (1) prüfte die desinfizierende Wirkung des Schwefelkohlenstoffes auf wurmstichige Holzarten und fand im Schwefelkohlenstoff ein ausgezeichnetes Mittel gegen die verschiedenen Holzbohrerspecies. 10 g Schwefelkohlenstoff in 1 cbm zeigten sich bei 15-tägiger Einwirkungsdauer wirksam; bei Anwendung von 50 g Schwefelkohlenstoff pro Kubikmeter ist die Desinfektion eine recht vollständige, dabei ist es gleich, ob es sich um Nadel- oder Laubholz handelt. Die Stärke des Holzes beeinträchtigt die Wirkung nicht.

Interessant sind die Versuche, die eine große Zahl von Gelehrten über die Bodenbehandlung mit Schwefelkohlenstoff und ihre Einwirkung auf das Pflanzenwachstum anstellten. Die Untersuchungen von Hiltner und Störmer (9) haben ergeben, daß bei Schwefelkohlenstoffbehandlung die N-Ernährung der Pflanzen gefördert wird durch die tiefgreifende Beeinflussung der Bakterien im Boden durch Schwefelkohlenstoff. Dadurch, daß die empfindlichen Bakterien zurückgedrängt werden, können die widerstandsfähigen sich kräftig vermehren.

Aus allen den in der Literatur angeführten Angaben geht deutlich hervor, daß die Wirkung des Schwefelkohlenstoffes in der Abtötungspraxis sich sehr gut bewährt hat, und es war anzunehmen, daß seine Dämpfe auch bei der Desinfektion der *Pedic. vestim.* von Erfolg sein werden.

Schwefelkohlenstoffversuche.

Legt man eine Laus in eine mit Filtrierpapier ausgelegte Petri-Schale und gibt gleichzeitig ein mit einem Tröpfchen Schwefelkohlenstoff angefeuchtetes Wolläppchen hinein, so kann man beobachten, von welcher enormen Wirkung dieses Gas auf die Tiere ist. Die Tierchen werden

unruhig und beginnen zu wandern. Doch schon nach einigen Sekunden bleiben sie plötzlich stehen, und in 3—5 Minuten stellt sich bei ihnen der Tod ein. Mikroskopisch ist zwar noch daran Darmbewegung zu sehen; sie erholen sich aber nicht mehr. Bringt man auf den Boden eines Reagensglases ein Tröpfchen Schwefelkohlenstoff, tut in der Entfernung von 5 cm in das Glas einen Wattestopfen und setzt darauf einige Läuse, so sterben sie nach ganz kurzer Zeit, da die Gase durch den Stopfen schnell durchdringen und sie töten. Diese Eigenschaften des Schwefelkohlenstoffes noch näher zu studieren, war die Aufgabe folgender Versuche:

Versuch I.

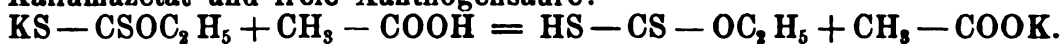
Die Läuse und Nissen wurden in kleinen, leinenen Säckchen eingebunden und an einem Glasstabe aufgehängt, an dessen Ende ein kleines Schälchen zur Aufnahme des Schwefelkohlenstoffes angebracht war. Dieser Glasstab ging mit seinem anderen Ende durch einen Kork, der, luftdicht schließend, in einer 610 ccm fassenden dickwandigen Glasflasche saß. Der Kork diente so gleichzeitig zum Abschließen der Flasche und zum Halten des Stabes. In das Schälchen wurden 5 ccm Schwefelkohlenstoff gegossen, vorsichtig die Flasche geschlossen und bei einer Temperatur von 12° C 24 Stunden aufbewahrt. Beim Öffnen der Flasche, nach abgelaufener Zeit, zeigte sich in der Flasche ein starker Druck. Ein Teil des Schwefelkohlenstoffes (1 ccm) war verdunstet. Die nähere Untersuchung der Läuse ergab, daß sie tot waren und sich braun verfärbt hatten. Die Nissen zeigten mikroskopisch keine charakteristischen Veränderungen; sie wurden daher in den Brutschrank zum Auskriechen bei der bestimmten Temperatur und nötigen Feuchtigkeit gestellt und öfters beobachtet. Es zeigte sich, daß aus diesen Nissen keine einzige Laus auskroch, während aus einer gleichen Kontrolle von 4 Nissen, die nicht dem Schwefelkohlenstoff ausgesetzt waren, schon am 3. Tage 3 Tierchen ausgekrochen waren.

Versuch II.

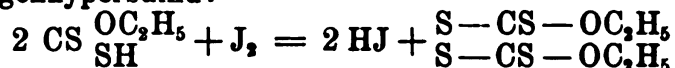
Dieser Versuch wurde angestellt, um die Durchdringlichkeit des Schwefelkohlenstoffes durch verschiedene Gewebesorten zu studieren. Es wurden geprüft dicker, schwarzer Wollstoff, festes, weißes Leinen, unverfälschte, gelbe Rohseide und Baumwollstoffe. Aus diesen Stoffen wurden kleine, 2-, 3-, 4- und 5-fach gewickelte Röllchen angefertigt und mit einer Klemme zunächst die eine Seite der Rolle abgeschlossen. Die zweite Öffnung der Rolle wurde zum Einbringen der nötigen Zahl der Läuse in die Rollhöhle benutzt und konnte mit einer zweiten Klemme abgeschlossen werden. Die Läuse wurden aus ihrem Behälter nicht direkt mit der Pincette hervorgeholt, sondern durch kleine Stückchen Wollstoff, die in Pincetten festgeklemmt waren. Man bringt den Wollstoff mit der Pincette in die Nähe der Laus, worauf diese auf den Stoff heraufkriecht, und man wirft sie so mit dem Stoff in die Rolle hinein. Dadurch ist eine Schädigung der Tiere beim Hantieren direkt ausgeschlossen. Die so eingerollten Läuse wurden nun in eine Petri-Schale gebracht und zugedeckt, in die gleichzeitig ein mit Schwefelkohlenstoff getränktes Stückchen Stoff hineingelegt war. Die Schwefelkohlenstoffdämpfe verbreiteten sich bald in der Petri-Schale. Die Versuche ergaben, daß schon nach 15 Minuten die Läuse selbst in 5-facher Wicklung abgetötet waren, ohne Unterschied des Stoffes.

Versuch III.

Um über die gleichmäßige Verteilung des Schwefelkohlenstoffes im Raume Aufschluß zu gewinnen, wurde folgender quantitative Versuch in einem gut abgedichteten Zimmer von 5,5 m Länge, 4,7 m Breite und 3 m Höhe angestellt: Zur Abdichtung wurden Leukoplaststreifen benutzt. Durch eine Bohrung der Wand wurden 3 Glasröhren eingelassen, die eine Verbindung des Zimmers mit einem angrenzenden Raum ermöglichten, aus welchem die nötigen Luftmengen entnommen werden konnten. Im Zimmer selbst wurden dann die Röhren bis zur Mitte fortgeführt, hier wurden sie gebogen, so daß eine jede Röhre in bestimmter Höhe endete und man so die Möglichkeit hatte, aus 3 verschiedenen Höhen die Luft des Zimmers im angrenzenden Raume zu entnehmen. Die Verdampfung des Schwefelkohlenstoffes im Zimmer wurde in 4 Schalen, die auf 4 Stühle gestellt waren, vorgenommen. In jede Schale kamen 250 ccm Schwefelkohlenstoff. Die Temperatur des Zimmers war 11° C. Der Schwefelkohlenstoffgeruch, der sich beim Verteilen der Flüssigkeit verbreitete, war kaum belästigend. Das so hergerichtete Zimmer wurde geschlossen und die Tür von außen gut abgedichtet. Nach 6 Stunden wurde zur Untersuchung der Zimmerluft geschritten. Die angewandte Methode zur Bestimmung des Schwefelkohlenstoffes der Luft beruht auf den von Gastine und K. B. Lehmann (14) gemachten Erfahrungen, daß alkoholische Kalilauge Schwefelkohlenstoff quantitativ bindet und in gelbseideglänzenden Kristallen daraus gewonnen werden kann: $\text{CS}_2 + \text{C}_2\text{H}_5\text{OK} = \text{KS} - \text{CS} - \text{OC}_2\text{H}_5$. Wird dieses xanthogensaure Kalium mit Essigsäure angesäuert, so entsteht in der Lösung Kaliumazetat und freie Xanthogensäure:



Die freie Xanthogensäure verbindet sich mit Jod zu Jodwasserstoff und Xanthogenhypersulfid:



Der Gang der Untersuchung war der folgende: Mittels großer Aspiratoren wurde eine bestimmte Menge mit Schwefelkohlenstoff beladener Zimmerluft durch die aufgestellten Glasröhren und Waschflaschen, die mit alkoholischer Kalilauge gefüllt waren, gesogen. In der alkoholischen Kalilauge wurde durch Essigsäure das xanthogensaure Kalium zersetzt und mit Jod titriert. Es wurde gefunden:

Oben: 2,8 mg im Liter
Mitte: 3,8 " " "
Unten: 2,8 " " "

Dieser Versuch wurde nun mit größeren Mengen Schwefelkohlenstoff wiederholt. 3 Liter Schwefelkohlenstoff wurden in 6 großen Schalen in der Mitte des Zimmers zur Verdampfung aufgestellt. Temperatur des geheizten Zimmers 22° C. Nach 16 Stunden wurde die Untersuchung der Zimmerluft vorgenommen und hatte folgendes Resultat:

Oben: 8,5 mg im Liter
Mitte: 8,1 " " "
Unten: 8,7 " " "

Die so gewonnenen Zahlen zeigen recht deutlich, daß die Verteilung des Schwefelkohlenstoffes im geheizten Raume eine gleichmäßige ist.

Versuch IV.

In dem gut abgedichteten Zimmer (5,5 m lang, 4,7 m breit und 3 m hoch) wurden verschiedene Kleidungsstücke auf einem Kleiderhänger

in der Mitte des Zimmers aufgehängt. Ein Teil wurde in Bündeln zusammengebunden und auf dem Boden liegen gelassen. Herr Oberstabsarzt Prof. Dr. Sinnhuber, zurzeit Chefarzt des Garnisonlazarets, war so freundlich, uns für diese Versuche Kleidungsstücke aus dem Garnisonlazarett zur Verfügung zu stellen. Es befanden sich unter den Kleidungsstücken dicke Soldatenmäntel, Hosen mit Lederbesatz, Wollwäsche, Russenmäntel etc. In die Kleider, meistens in die Taschen, wurden die Testobjekte, Nissen und Läuse, in Röllchen gerollt, hineingelegt. Der Schwefelkohlenstoff, 7 Liter, wurde in großen Schalen zur Verdampfung an den verschiedensten Stellen des Zimmers aufgestellt. Temperatur des Zimmers 21°C . Das Zimmer wurde geschlossen $6\frac{1}{2}$ Uhr abends, und erst am nächsten Morgen um $9\frac{1}{2}$ Uhr wurden die Proben, um den Schwefelkohlenstoffgehalt des Zimmers zu bestimmen, entnommen. Die Titration ergab einen Gehalt von 42,5 mg Schwefelkohlenstoff im Liter. Die Schwefelkohlenstoffdämpfe des Zimmers verzogen sich schon nach kurzer Zeit (2 Stunden) und den Kleidern war der Geruch nicht mehr anzumerken. Die nähere Untersuchung der Testobjekte zeigte, daß die Läuse alle abgetötet waren. Sie waren alle braun verfärbt. Die Nissen wurden in kleine Glasschälchen gebracht, die mit feuchtem Filtrierpapier ausgelegt waren und ein Stückchen Wollstoff als Unterlage hatten. Sie wurden offen in den Brutschrank bei 32°C und 45 Proz. Feuchtigkeit gestellt und zweimal täglich genau untersucht. Keine von den Nissen zeigte eine Entwicklung, die bis zur Auskeimung führte. In der Kontrolle krochen von 4 Nissen 3 schon nach 4 Tagen aus. Die weitere Beobachtung der Nissen zeigte, daß sie recht lange ihre Form behalten. Erst nach längerer Zeit (3 Wochen) zeigte sich oft bei manchen Nissen, die vor dem Versuch schon in der Entwicklung fortgeschritten waren, eine gelbe Verfärbung. Sonst tritt eine allgemeine Vertrocknung ein. Es bilden sich eingefallene Stellen, und später kann man auch mikroskopisch Risse sehen.

Zur Bekräftigung dieser Versuche wurden noch folgende weitere Versuche ausgeführt:

Versuch V.

Die Methode der quantitativen Ermittlung der Menge des Schwefelkohlenstoffes, die nötig ist, um Läuse und Nissen abzutöten, war die folgende: In einem Wiegegläschen mit gut schließendem Deckel wurde eine bestimmte Menge Schwefelkohlenstoff genau eingewogen und durch ein Drahtgestell auf den Boden einer 610 ccm fassenden Flasche gebracht, worin die Läuse und Nissen in verschiedenen Röllchen untergebracht waren. Der Deckel des Wiegegläschens wird nun geöffnet und die Flasche mit einem eingeschliffenen Glasstopfen geschlossen und in einem Zimmer von der Temperatur 10°C 3 Stunden stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die Flasche geöffnet, das Wiegegläschen geschlossen und zurückgewogen und aus der Differenz die Menge des verdunsteten Schwefelkohlenstoffes auf 1 Liter umgerechnet. Wiederholt angestellte Versuche zeigten, daß die Verluste bei diesem Arbeiten nur sehr klein sind und die Resultate nicht stark beeinträchtigen.

1. Angewandte Menge im Liter	0,6188 g
2. " " " "	0,4057 "
3. " " " "	0,1380 "
4. " " " "	0,1220 "

Die in den Röllchen eingewickelten Nissen und Läuse wurden nach 6 Stunden aufgerollt und näher untersucht. Alle Läuse waren abgetötet.

Versuche, sie wieder aufzumuntern, wie durch das Halten im Brutschrank, blieben erfolglos. Unter dem Mikroskop zeigten sie kein Leben. Sie hatten sich auch alle dunkel verfärbt, und eine Fehldiagnose war ausgeschlossen.

Die Nissen wurden wie bei Versuch IV untersucht und in den Brutschrank gestellt und zweimal täglich beobachtet. Aus keiner der Nissen war eine Laus ausgekrochen, während aus der gleichzeitig eingestellten Kontrolle alle 4 Nissen auskeimten.

Versuch VI.

Dieser Versuch wurde angestellt, um die niedrigeren Grenzen festzuhalten. Versuchsanordnung wie bei Versuch V. Dauer der Einwirkung 4 Stunden. Temperatur 20°.

1. Angewandte Menge im Liter	0,1730 g
2. " " " "	0,1199 "
3. " " " "	0,0570 "

Die Läuse waren wieder bei allen Versuchen tot. Die Nissen kamen bei 1 und 2 nicht zur Entwicklung. Bei Versuch 3 mit 57 mg pro Liter zeigte es sich, als wenn eine Nisse fast bis zur vollständigen Entwicklung gekommen wäre, doch war das Resultat zweifelhaft. In der Kontrolle krochen 3 Läuse von 4 Nissen in 6 Tagen aus.

Versuch VII.

Die Versuche wurden nun wiederholt mit 98,3 mg pro Liter, mit 58,6 mg und 54,5 mg pro Liter. Die Läuse wurden bei allen Versuchen, die Nissen bei 98,3 mg alle abgetötet, ebenso bei 58,6. Bei 54,5 mg krochen von 23 Nissen am 1. Tage 1, am 2. Tage 2 und am 3. Tage 3 Läuse aus.

Das Ergebnis der Versuche veranschaulicht folgende Tabelle:

Versuch	angewandte Menge CS ₂ pro Liter	Dauer der Ein- wirkung	Temperatur	Ergebnis
1.	618,8 mg	3 Stunden	10° C	Läuse, Nissen tot
2.	405,7 "	3 "	10° C	" " "
3.	226,2 "	3 "	10° C	" " "
4.	122,0 "	3 "	10° C	" " "
5.	173,0 "	4 "	20° C	" " "
6.	119,9 "	4 "	20° C	" " "
7.	98,3 "	6 "	20° C	" " "
8.	57 "	4 "	20° C	kommt nicht ganz bis zur vollständigen Entwicklung
9.	58,6 "	6 "	20° C	Läuse, Nissen tot
10.	54,5 "	6 "	20° C	aus 23 Nissen 6 Stck. ausgekrochen
11.	42 "	15 "	21° C	Läuse, Nissen tot

Die Versuche zeigen, daß bei 54 mg bis 57 mg pro Liter die Grenze der Abtötung der Nissen durch Schwefelkohlenstoff ist; von 98 mg an waren alle tot. Man wird deshalb nicht fehlgehen, wie bei anderen Desinfektionsversuchen mit Bakterien, auch in diesem Falle mindestens die doppelte Menge des Schwefelkohlenstoffes bei der Entlausung eines Zimmers oder Kleidungsstückes zu nehmen und auf 1 cbm 100 g Schwefelkohlenstoff. Da 100 g Schwefelkohlenstoff 77 ccm betragen, so benötigt man auf 1 cbm Luftraum 77 ccm Schwefelkohlenstoff.

Praktische Anwendung:

a) **Zimmer.** Die Zimmer werden gut abgedichtet, alle Ritzen und Spalten müssen, wie bei der Formalindesinfektion, mit Watte und Klebpapier abgedichtet werden. Falls ein Ofen im Zimmer steht, ist darauf zu achten, daß Abzug und Tür nicht offen bleiben. Der Schwefelkohlenstoff wird am besten in weite Schalen gegossen, die auf Stühle gestellt werden, die im Zimmer verteilt werden. Sollen Kleider mitentlaust werden, so werden sie im Zimmer an Kleiderhängern aufgehängt. Zunächst muß alles vorbereitet sein, und dann erst wird der Schwefelkohlenstoff mit einem Meßzylinder gleichmäßig verteilt. Die Verdunstung geht, je nach der Temperatur und Weite der Schalen, bald schneller, bald langsamer vor sich.

Der Aufenthalt in dem mit Schwefelkohlenstoff beschickten Raum ist möglichst einzuschränken, da die Gase für den Menschen giftig sind. Selbstverständlich darf man sich einem mit Schwefelkohlenstoff behandelten Zimmer nicht mit einer offenen Flamme nähern, obwohl die Explosionsgefahr nicht so groß ist, wie man sonst annimmt. Schwefelkohlenstoff ist auch ein gutes Abtötungsmittel gegen Wanzen. Was den Schwefelkohlenstoff als Läusevertilgungsmittel ganz besonders auszeichnet, das ist die schonende Art seiner Wirkung. Selbst in ganz starker Konzentration greift er die Kleider nicht an, bleicht keine Farben, verflüchtigt sich bald und läßt keinen belästigenden Geruch zurück, wie andere Desinfektionsmittel. Eine richtige Durchlüftung der Kleider durch Aushängen derselben im Freien ist aber notwendig.

b) **Kästen.** Die Kleider werden in einen Kasten aus Zinkblech von etwa 2 cbm Inhalt gebracht. Der obere Rand hat eine mit Wasser gefüllte Rinne, in die der Deckel eingelegt wird. Auf die Kleider werden flache Teller mit Schwefelkohlenstoff gestellt. Die Schwefelkohlenstoffdämpfe durchdringen von oben nach unten all die eingelegten Kleidungsstücke und töten schon in kurzer Zeit bei erreichter Konzentration Läuse und Nissen.

Die Erfahrungen, die man im hiesigen Gefangenenlager mit solchen Kästen mit Schwefelkohlenstoff gemacht hat, sind sehr gute. Kleider, die über Nacht, also 10–12 Stunden, im Kasten gelegen haben, waren nach tüchtigem Ausklopfen läusefrei, die abgefallenen Läuse waren alle tot. Die toten Nissen werden mit einem Messer oder scharfen Stückchen Holz abgekratzt. Der Geruch verflüchtigt sich nach einigen Stunden.

Der von der Firma F. u. M. Lautenschläger-Berlin in den Handel gebrachte Apparat zur Verdampfung von Schwefelkohlenstoff zur Ungeziefervertilgung trägt nicht mit Recht diesen Namen, da er den Schwefelkohlenstoff nicht verdampft, sondern zur schwefligen Säure verbrennt. Dieser falsche Name kann beim Kauf zur Annahme führen, man hätte es mit einem Apparat zur Verdampfung des Schwefelkohlenstoffes zu tun; dies ist aber nicht der Fall.

Schweflige Säure.

Sehr viel empfohlen und mit Erfolg angewandt wird in neuester Zeit die schweflige Säure zur Desinfektion von Läusen und Nissen. „Man hat sie herübergenommen von der Vertilgung der Ratten in Schiffen etc. bei Pestverdacht, wo SO_2 in Form des Clayton-Gases verwendet wird (2). Schon Robert Koch und Wolffhügel (13) konnten nachweisen, daß die schweflige Säure in einem gut abgedichteten Glaskasten sporenfreie Bacillen bei einem Gehalt von 0,5 bis

0,8 Vol.-Proz. binnen 24 Stunden abtötet. E. Gottschlich (5) berichtet über seine Versuche mit schwefliger Säure, als Clayton-Gas, wonach er bei einem Prozentsatz von 8 Proz. sowie nachfolgendem mehrstündigen Verweilen sporenlose Bakterien (auch *Staphylococcus pyogenes aureus*), sowie Wanzen, Flöhe und Läuse vollständig abgetötet fand. Bei einem Gehalt von 8 Proz. SO_2 werden Typhus-, Cholera- und Pestbacillen vernichtet, während die Wirkung auf Diphtherie- und Tuberkelbacillen und vor allem auf Sporen unsicher ist.“ Trembur (23), der diese Versuche unter Rubners Leitung einer Nachprüfung unterzog, kommt zu demselben Resultat. Für die Desinfektion von verlausten Wohnungen und Kleidungsstücken kommen aber diese kostspieligen Apparate, die zur Verbrennung des Schwefels dienen, nur selten in Betracht, und man griff daher, auf diese Erfahrungen gestützt, zur Darstellung der schwefligen Säure nach den alten Methoden, durch Verbrennen von Schwefel in mit Chamotte ausgeklebten, langen Blechrinnen (Grassberger) oder durch Verbrennen von Schwefelkohlenstoff (Salfarkose) SO_2 zu entwickeln.

Ueber die Erfahrungen, die wir mit der schwefligen Säure machten, berichtet folgender Versuch:

Versuch I.

In einem Zimmer von 5,5 m Länge, 4,7 m Breite und 3 m Höhe wurden die Kleidungsstücke auf einen Kleiderständer aufgehängt. Die Testobjekte, Nissen und Läuse, wurden in Wollröllchen eingewickelt und in die Kleidertaschen gesteckt. Auf dem Boden wurden in einem großen Soldatenmantel einige Röcke und Hosen zu einem Bündel gebunden, die auch mit Röllchen — die Läuse und Nissen enthielten — versehen wurden. Das Zimmer wurde gut abgedichtet. Zur Erzeugung der schwefligen Säure wurde eine Blechrinne genau nach den Angaben von Grassberger verfertigt. Die Rinne — der Verbrennungsherd — wurde in die Mitte des Zimmers gestellt. Zur Entnahme und Bestimmung der schwefligen Säure waren aus der Mitte des Zimmers Glasröhren durch die Wand gezogen, durch welche mittels Aspiratoren bestimmte Mengen entnommen wurden. Bei diesem Versuche wurden 5 kg gelben Stangenschwefels mit $\frac{1}{5}$ Liter Brennspiritus übergossen, mit dem Zündholz angesteckt, das Zimmer verlassen und die Tür abgedichtet. Durch ein Seitenfenster konnte die Verbrennung eine Zeitlang beobachtet werden. Schon nach einer Viertelstunde hatte sich das Zimmer mit dichtem, undurchsichtigem Nebel gefüllt. Das Aufflackern der Flamme konnte jedoch noch nach einer halben Stunde beobachtet werden. Die Probeentnahme zur Bestimmung der schwefligen Säure wurde nach 12 Stunden vorgenommen. Sie zeigte, daß die Verteilung der schwefligen Säuredämpfe im Raume eine recht gute war.

1 Liter SO_2 -haltige Luft verbrauchte:

oben	24,8 ccm	$\frac{1}{10}$ n.	Jodlösung	mal	3,2	=	79,36 mg SO_2
Mitte	25,0	" $\frac{1}{10}$ n.	"	"	3,2	=	80,00 " "
unten	24,6	" $\frac{1}{10}$ n.	"	"	3,2	=	78,72 " "
						Mittel	79,36 mg SO_2

Die Entlüftung des Zimmers ging sehr langsam vor sich; obwohl Tür und Fenster geöffnet wurden, konnte man erst nach $2\frac{1}{2}$ Stunden die Testobjekte aus den Kleidern holen; das Zimmer konnte jedoch für längere Zeit nicht bewohnt werden. Von den 28 Proben waren 18 Röllchen mit je 6 Läusen gefüllt und in 10 Röllchen kamen je 4 Nissen.

Die Läuse waren alle tot; die Nissen wurden in den Brutschrank mit einer Kontrolle von 8 Nissen gestellt. Aus der Kontrolle krochen am 2. Tage 3 Läuse aus, am 3. Tage weitere 3 und am 4. Tage 1 Laus. 1 Nisse kam nicht zur Entwicklung. Die anderen Proben wurden täglich 2mal eingehend beobachtet und zeigten nach längerer Beobachtung, 14—18 Tage, keine Veränderung. Die schweflige Säure war somit durch alle Kleider durchgedrungen. Auch die Läuse und Nissen, die in dem großen Bündel untergebracht waren (3 Röllchen mit je 6 Läusen, 3 Röllchen mit je 4 Nissen), waren abgetötet. Die Kleider, Soldatenuniformen, hatten in keiner Weise gelitten; doch behielten sie noch nach tagelangem Lüften den starken Geruch nach schwefliger Säure bei. Nach anderen Mitteilungen sollen übrigens manche Farben stark angegriffen werden, was sehr glaubhaft ist.

Versuch II.

Die quantitative Ermittlung der kleinsten Mengen schwefliger Säure, die nötig sind, um Läuse und Nissen abzutöten, wurde nach folgender Methode ausgeführt:

In ein Erlenmeyer-Kölbchen mit Tubus von 300 ccm Inhalt wurden 150 g Natriumsulfit gebracht. Die Oeffnung des Kölbchens war mit einem gutschitzenden Gummistopfen geschlossen, durch den ein kleiner Tropftrichter ging, der mit Säure gefüllt wurde. Durch das Tropfenlassen der Säure auf das Sulfit wurde ein starker Strom von SO_2 entwickelt. Die entwickelte SO_2 wurde mittels Gummischlauches vom Tubus aus nach einer Hempelschen Bürette geleitet und über Quecksilber aufgefangen. Die aufgefangenen Gase wurden analysiert und ihr Gehalt an SO_2 durch Auffangen in einer $\frac{1}{10}$ n. Jodlösung und Rücktitration bestimmt. Bestimmte Mengen des so analysierten Gases wurden in folgendem Versuche genommen:

Die Läuse und Nissen wurden wieder in Röllchen von verschiedener Stärke gewickelt und an die Haken eines Stopfens, der in einer 610 ccm fassenden Flasche gut saß, gehängt. Durch den Stopfen gingen 2 dicke, gebogene Kapillarröhren durch. Die eine Röhre war bis zum Boden der Flasche geführt, die andere kurz unter dem Stopfen abgeschnitten. Die Abdichtung des Stopfens geschah mittels Wasserglases. Zur Aufnahme des SO_2 -Gases wurde die nach dem Boden führende Röhre mit ihrem äußeren Ende mittels dicken Gummischlauches mit der gefüllten Hempelschen Röhre verbunden und aus letzterer durch Oeffnen des Hahnes und Hebung des Quecksilbers eine bestimmte Menge SO_2 in die Flasche langsam hineingelassen. Nach 10 Minuten wurde die Verbindung aufgehoben, die beiden Röhrenöffnungen der Flasche mit Wachs gut abgedichtet und die so mit schwefliger Säure beschickten Flaschen 4 Stunden bei 20°C stehen gelassen. Nach dieser Zeit wurden die Flaschen geöffnet, die eingehängten Röllchen herausgenommen und näher untersucht.

Flasche 1 in 610 ccm	70,0 mg,	im Liter	114,0 mg
„ 2 „ 610 „	67,2 „	„ „	110,0 „
„ 3 „ 610 „	40,0 „	„ „	65,5 „

In allen diesen Versuchen wurden Läuse und Nissen glatt abgetötet. Aus der Kontrolle — 16 Nissen — krochen am 3. Tage 6, am 4. Tage 8 Läuse aus. 2 Nissen gingen nicht auf.

Versuch III.

Die Versuche wurden mit kleinen Mengen schwefliger Säure wiederholt. Anordnung und Gang des Versuches wie bei dem vorhergehenden:

Flasche 1 in 610 ccm 57,6 mg, im Liter 94,4 mg
 " 2 " 610 " 33,6 " " " 55,0 "
 " 3 " 610 " 26,4 " " " 43,2 "

Nach 6 Stunden fand die nähere Untersuchung der Testobjekte statt. Die 18 Läuse (in jedem Röllchen je 6) waren alle tot. Die Nissen wurden in den Brutschrank gestellt. Bei 95,4 mg pro Liter ist von 18 Nissen keine einzige ausgekrochen, bei 55 mg pro Liter von 10 Nissen 4 am 3. Tage und dann 3 am 4. Tage. Bei 43 mg pro Liter sind von 6 Nissen nur 3 ausgekrochen, am 3. Tag 1, am 4. Tage 2. Die anderen Nissen wurden noch lange beobachtet (28 Tage), ohne jeden weiteren Erfolg.

Das Ergebnis der Versuche veranschaulicht folgende Tabelle:

Versuch	angewandte Menge SO ₂ pro Liter	Dauer der Einwirkung	Temperatur	Ergebnis
1.	114,0 mg	4 Stunden	21° C	Läuse, Nissen tot
2.	110,0 "	4 "	21° C	" " "
3.	94,4 "	6 "	19° C	" " "
4.	79,3 "	9 "	18° C	" " "
5.	65,5 "	4 "	21° C	" " "
6.	55,0 "	6 "	20° C	Läuse tot, von 10 Nissen 4 ausgekrochen
7.	43,2 "	6 "	20° C	Läuse tot, von 6 Nissen 4 ausgekrochen

Betrachten wir die gewonnenen Resultate etwas näher, so zeigen uns die Versuche 6 und 7, daß bei 43,2 mg und bei 55 mg pro Liter noch keine vollständige Abtötung eingetreten ist. Auch hier wird man bis zu 100 mg pro Liter heraufgehen müssen und die Einwirkungs-dauer nicht unter 4—5 Stunden nehmen dürfen.

Einen schönen Beitrag zu der hier behandelten Frage liefert der Artikel von Zabel (22), zurzeit ordinierender Arzt am Kriegsgefangenen-lazarett Tuchel. Er sagt über die schweflige Säure: Schweflige Säure soll die Fähigkeit besitzen, bei einer Stärke von 6 Proz. in 5—6 Stunden Läuse und Nissen zu töten. Wir haben zu unseren Versuchen den Mortifix-Apparat benutzt; in einem luftdicht geschlossenen Raume wurde die vorgeschriebene Anzahl Platten (auf 6 cbm eine Platte) verbrannt; die Läuse waren in offenen Reagensgläsern der unmittelbaren Einwirkung des Schwefeldioxyds ausgesetzt. Der Erfolg war nicht den Erwartungen entsprechend: Etwa die Hälfte der Läuse blieb am Leben; die Nissen entwickelten sich normal. Hieran änderte sich auch nichts, wenn die Zahl der Schwefelplatten verdoppelt und verdreifacht wurde. Um eine beschleunigte Entwicklung von genügenden Mengen der schwefligen Säure zu erzielen, wurden mehrere Apparate gleichzeitig in Tätigkeit gesetzt; aber trotzdem die Gläser mit den Läusen in möglichster Nähe der Verbrennungsapparate aufgestellt wurden, gelang es dennoch nie, mehr als 75 Proz. der Läuse zu töten. Alle waren zwar nach 6-stündiger Einwirkung bewegungslos, erholten sich aber zum Teil sehr bald wieder. Da in Wirklichkeit eine über 6 Stunden hinausgehende Schwefelzeit kaum in Anwendung gebracht werden kann, so hatte eine Fortsetzung dieser Versuche keinen Wert und unterblieb deshalb.

Auch wir haben mit dem Mortifix-Apparat gearbeitet und konnten feststellen, daß, wenn man nach der Vorschrift, die dem Mortifix-Apparat beigelegt ist, arbeitet, die gebildete schweflige Säure nicht genügt, um Läuse und Nissen binnen 6 Stunden abzutöten. Den Experimenten

Zabels könnte man entgegenhalten, daß seine Versuchsanordnung in diesem Falle nicht richtig gewählt ist. Es vergeht wohl recht viel Zeit, bis in einem Reagenszylinder die Konzentration erreicht wird, die die umgebende Luft enthält. Unsere Versuche wurden so angestellt, daß die Läuse und Nissen in Wolläppchen eingerollt wurden in verschiedener Stärke, und die Enden des Röllchens wurden mit Klammern abgedichtet. Diese Röllchen kamen in die Taschen der aufgehängten Kleidungsstücke. Wir verbrannten 14 Platten, da eine Platte für 6—8 cbm genügen soll, in einem gut abgedichteten Zimmer (5,5 m lang, 4,7 m breit und 3 m hoch) in dem Mortifix-Apparat. Die Verbrennung, das muß man sagen, geht mit diesem Apparat sehr gut vor sich. Es bilden sich neben der schwefligen Säure auch andere Verbrennungsprodukte. Die vorgenommene titrimetrische Bestimmung in der vorgelegten $\frac{1}{10}$ Normaljodlösung mit Thiosulfat ergab aber nur einen Gehalt von 32 mg SO_2 pro Liter. Daß diese Mengen nicht genügen, um Läuse und Nissen abzutöten, geht aus anderen Versuchen mit schwefliger Säure hervor.

Es sei hier noch ein Vergleich von Schwefelkohlenstoff mit schwefliger Säure in bezug auf Preis und Wirkung angeführt.

1) 1 kg „Salfarkose“ kostet ¹⁾	1,50 M.
angewandte Menge pro Kubikmeter 50 g =	0,07 „
50 g „Salfarkose“ = 45 g Schwefelkohlenstoff	
45 g Schwefelkohlenstoff = 57 g schweflige Säure	
2) 1 kg schweflige Säure kostet ¹⁾	1,45 „
angewandte Menge pro Kubikmeter 50 g =	0,07 „
3) 1 kg Schwefelkohlenstoff kostet ²⁾	1,50—1,30 M.
angewandte Menge pro Kubikmeter (durch Verbrennen) 50 g =	0,07—0,06 „
50 g Schwefelkohlenstoff = 63,8 g schweflige Säure	
4) 1 kg Stangenschwefel kostet ²⁾	1,00—0,80 „
angewandte Menge pro Kubikmeter 50 g =	0,05—0,04 „
50 g Stangenschwefel = 100 g schweflige Säure	
5) 1 kg Schwefelkohlenstoff kostet	1,50—1,30 „
angewandte Menge (durch Verdampfen) 100—150 g =	0,15—0,22 „

Diese Zahlen zeigen uns, daß die Billigkeit der schwefligen Säure gegenüber den Schwefelkohlenstoffdämpfen nur scheinbar und nur auf die zu geringe angewandte Konzentration zurückzuführen ist. Bei notwendiger Konzentration wäre der Preisunterschied nur ganz gering. Höchstens bei Verbrennen von Schwefel zur schwefeligen Säure könnte es scheinen, daß hier die Billigkeit ganz besonders für die Anwendung mitsprechen könnte. Dem ist aber nicht so; denn beim Verbrennen von Schwefel, selbst nach dem Verfahren von Grassberger (in einer Blechrinne, mit Schamotte ausgelegt), bleibt ein Teil des Schwefels unverbrannt, und dadurch wird die Konzentration nie erreicht. Eine Erhöhung der Konzentration bei der schwefligen Säure ist, wie unsere Untersuchungen ergeben haben, notwendig. Aber selbst bei einem höheren Preis hat der Schwefelkohlenstoff vor der schwefligen Säure den Vorzug, daß er die Kleider schont und sich leicht verflüchtigt, während die schweflige Säure diesen Vorzug nicht besitzt, sondern sie manchmal beschädigt und ihnen tagelang anhaftet.

Meinem verehrten Chef, Herrn Prof. Dr. Karl Kisskalt, danke ich für die Anregung und Unterstützung dieser Arbeit.

Literatur.

- 1) Bolle, Johann, Die Desinfektion von wurmstichigen Holzarten mittels Schwefelkohlenstoff. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchsw. in Oesterreich. 1915. p. 279; zitiert nach einem Referat im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 14. 1905.)

- 1) Veröffentl. d. Kaiserl. Gesundheitsamtes, 5. Mai 1915, wo die Preise angegeben sind.
- 2) Die Preise sind uns von einer Großdrogenhandlung angegeben.

- 2) Flügge, C., Desinfektion bei Kriegsseuchen. („Seuchenbekämpfung im Kriege.“. 10 Vorträge.) Jena (G. Fischer) 1915.
- 3) Felix, Arthur, Zur Methodik der Läusevertilgung durch Dämpfe chemischer Agentien. (Wien. klin. Wochenschr. 1915. No. 24.)
- 4) Grassberger, Ueber das Ausschwefeln von Ungeziefer. (Wien. klin. Wochenschr. 1914. No. 51.)
- 5) Gotschlich, E., Desinfektionslehre. (Kolle-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorgan. Bd. 3. 1913. p. 494.)
- 6) Haase, Albert, Beiträge zur Biologie der Kleiderlaus. (Flugschr. d. Deutsch. Gesellsch. f. angew. Entomol. Berlin 1915.)
- 7) Heymann, Bruno, Die Bekämpfung der Kleiderlaus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 80. 1915.)
- 8) Heintze, Berthold, Einiges über den Schwefelkohlenstoff, dessen Wirkung auf niedere pflanzliche Organismen, sowie seine Bedeutung für die Fruchtbarkeit des Bodens. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. p. 329.)
- 9) Hiltner u. Störmer, Die Wirkung des Schwefelkohlenstoffes auf das Bakterienleben des Ackerbodens. (Arb. d. biolog. Abt. f. Land- u. Forstwiss. am Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 2. 1903.)
- 10) Kisskalt, Karl, Die Bekämpfung der Läuseplage. 1. (Deutsch. med. Wochenschr. 1915. No. 6.)
 - a) — u. Friedmann, Alexander, Die Bekämpfung der Läuseplage. 2. (Deutsch. med. Wochenschr. 1915. No. 14.)
 - b) —, Die Hauttemperatur des Nackten unter normalen und einigen abnormen physiologischen Bedingungen. (Arch. f. Hyg. Bd. 70. p. 17.)
 - c) —, Das Aussterben der „Krankheiten der Unkultur“. (Deutsch. med. Wochenschr. 1914. p. 1606.)
 - d) —, Das jahreszeitliche Auftreten der Kriegsseuchen. (Ebenda. 1915. No. 20.)
- 11) Kirstein, Fritz, Das Fleckfieber und seine Bekämpfung. (Veröffentl. a. d. Geb. d. Medizinalverwalt. H. 9. 1915.)
- 12) Kurzweili, Walter, Ueber die Widerstandsfähigkeit trockener pflanzlicher Organismen gegen giftige Stoffe. (Jahrb. f. wissensch. Botan. Bd. 38. p. 291; zit. nach B. Heintze, Einiges über den Schwefelkohlenstoff. Centralbl. f. Bakt. Bd. 16. p. 329.)
- 13) Koch, R. u. Wolffhügel, Mitteil. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. 1. p. 181.
- 14) Lehmann, K. B., Die Methoden der praktischen Hygiene. Wiesbaden 1901.
- 15) Meltzer, Otto, Die Bekämpfung der Läuseplage im Felde. (Deutsch. med. Wochenschr. 1915. No. 18.)
- 16) Marschalko, Die Bekämpfung der Läuseplage im Felde. (Deutsch. med. Wochenschr. 1915. No. 11.)
- 17) Nocht u. Halberkann, Beiträge zur Läusefrage. (München. med. Wochenschr. 1915. No. 18.)
- 18) v. Prowacek, Bemerkungen über die Biologie und Bekämpfung der Kleiderlaus. (Deutsch. med. Wochenschr. 1915. No. 2.)
- 19) Rubner, Die Kleidung. (Handb. d. Hyg. Bd. 1. p. 602.)
- 20) Veröffentlichungen des Kaiserlichen Gesundheitsamtes vom 5. Mai 1915. No. 18.
- 21) Versluys, Ueber die Verbreitung der Seuchen durch Insekten im Kriege. Leipzig 1915.
- 22) Wülker, Zur Frage der Läusebekämpfung. (München. med. Wochenschr. 1915. No. 18.)
- 23) Trembur, Untersuchungen über die im Claytonapparat erzeugten Schwefeldämpfe. (Arch. f. Hyg. Bd. 52. p. 255.)
- 24) Zabel, Entlausungsversuche und ihre Ergebnisse. (Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1915. p. 478.) (G. C.)

Anhang.

Zur mikroskopischen Anatomie von *Ped. vestimentorum*.

Von Prof. Dr. Kisskalt.

Mit 1 Tafel.

Die wesentlichen Fehler, die sich in sämtlichen Abbildungen zur mikroskopischen Anatomie der Kleiderlaus befinden, welche den in letzter Zeit erschienenen Arbeiten beigegeben waren, veranlassen mich, Mikrophotogramme von Schnittpräparaten hier wiederzugeben. — Die Läuse

Digitized by Google

Fig. 1.



Fig. 2.

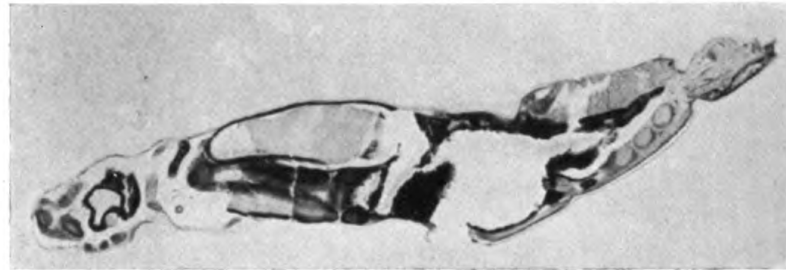
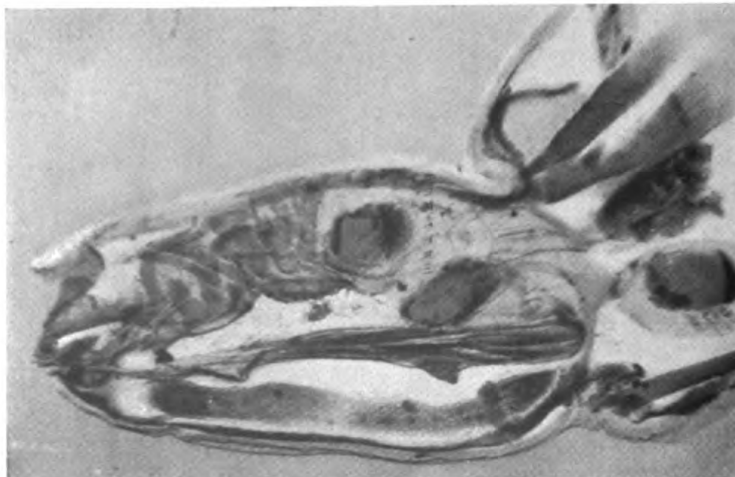


Fig. 3.



Fig. 4.



wurden in 60-proz. Alkohol oder Aceton fixiert, gehärtet, in Paraffin eingebettet und geschnitten. Für histologische Feinheiten wird man noch besser die Haut durch seitliche Schnitte verletzen, damit Formalin und ähnliches eindringen kann. An Serienschnitten lassen sich sehr schön andere hier nicht wiedergegebene Einzelheiten, wie die Ausdehnung des ringförmigen Kopfganglions, der Speicheldrüse, die Magenblindsäcke usw. studieren.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Im Kopfe unten die dunkelgefärbte Speicheldrüse, darüber Stachel in Scheide; Ganglien; vorn — oben Schlingmuskulatur. — Im Thorax unten 3 Bauchganglien, darüber Leber, Muskulatur. — Im Abdomen, vordere Hälfte: Darm (Wandung beim Schneiden nach oben eingebogen, Inhalt herausgefallen); hintere Hälfte: Darmwand tangential angeschnitten, Enddarm etc. Vergr. 34:1.

Fig. 2. Aehnlich Fig. 1; besser zu sehen: der Oesophagus, die Leber (über den Bauchganglien); in der hinteren Hälfte des Abdomens über dem tangential angeschnittenen Darm ein Ei, dahinter unter anderem Malpighische Drüsen. Vergr. 32:1.

Fig. 3. Kopf, stärker vergrößert, der nächste Schnitt derselben Serie wie Fig. 1. Pharynx und Oesophagus stoßen ziemlich stumpfwinklig zusammen, letzterer hat sogar einen kleinen Blindsack gegen ersteren hin. Vergr. 230:1.

Fig. 4. Kopf. Bau der Speicheldrüse sehr deutlich. Darüber Stachel in Scheide, Ganglien, Schlingmuskulatur; Mund etwas defekt. Vergr. 165:1. (G. C.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Wert der Cholerashutzimpfungen.

[Mitteilung aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der Königl. ungar. Franz Joseph-Universität in Kolozsvár; Direktor: Prof. Dr. J. v. Lőte.]

Von Privatdozent Dr. Daniel Konrádi,

Adjunkt des Institutes,

derzeit Chefarzt der VII. Krankenabt. des k. u. k. Reservespitals in Kolozsvár.

Mit 1 Kurve im Text.

In einer vorläufigen Mitteilung¹⁾ am 12. Dezember 1914 in der ärztlichen Fachsitzung des Siebenbürgischen Museum-Vereins referierte ich schon über jene Erfahrungen, welche betreffs des Agglutinin- und Bakteriolysegehaltes des Blutserums an 423 Cholerashutzgeimpften konstatiert wurden. Gleichzeitig habe ich versprochen, diese Untersuchungen an einem größeren Material fortzusetzen, um nachweisen zu können, wie lange diese Schutzstoffe im Blutserum der Schutzgeimpften zu finden sind, denn dies ist — wie ich schon damals betonte — nach unserem heutigen Wissen das einzige nachweisbare Zeichen der nach der Schutzimpfung eingetretenen Immunität.

Damals konnte ich also nur über an 423 Personen gewonnene Angaben referieren; seit der Zeit habe ich als Chefarzt der VII. Abt. des k. u. k. Reservespitals in Kolozsvár 468 Soldaten, als Schularzt des reformierten Kollegiums in Kolozsvár 509 Studenten und Professoren gegen Cholera geimpft, so daß ich jetzt über das Resultat der an 1400 Menschen vollbrachten Schutzimpfungen referieren kann.

Bevor ich auf die Einzelheiten übergehe, scheint es mir wünschenswert, die Art und Weise der bisherigen Cholerashutzimpfungsmethoden kurz zu registrieren.

1) Értésítő. Jahrg. 1914. H. 4.

Der Bahnbrecher dieser Untersuchungen war Ferrán im Jahre 1884/85. Er arbeitete mit Kulturen, welche aus Cholerakranken frisch gezüchtet wurden. Die Impfungen wurden in 3 Intervallen unternommen, und zwar wurden zum ersten Male aus der Cholera-Bouillonkultur 8 Tropfen, nach 6—8 Tagen 0,5 ccm und nach abermals 6 bis 8 Tagen wieder 0,5 ccm subkutan gespritzt. Ferráns Schutzimpfungen haben natürlich überall großes Aufsehen erregt, speziell aber in Frankreich, wo man eine aus Pasteur, Brouardel, Charrin und Albarran bestehende Kommission bildete und zu Ferrán nach Spanien entsandte, um sein Verfahren an Ort und Stelle zu studieren. Diese Kommission hat sich in ihrem am 5. Juli 1885 eingereichten Referat gegen die Ferránschen Impfungen geäußert¹⁾. Ebenso waren später Gibier, van Ermengem, Nicati, Ritsch und Roßbach²⁾ gegen diese Impfungen mit der Motivierung, daß Ferrán nicht mit Reinkulturen gearbeitet und auf die pünktliche Dosierung keine Rücksicht genommen hätte. Dessenungeachtet bleibt es dennoch Ferráns Verdienst, daß er die Aufmerksamkeit gleich nach der Entdeckung des Choleravibrio auf die Schutzimpfungen lenkte, und er verdient keinesfalls jene Geringschätzung, welche ihm 1906 seitens Haffkines³⁾, 1911 seitens Metschnikoffs⁴⁾ und seines Schülers Choukevitch⁵⁾ zuteil wurde.

Die zweite Schutzimpfungsmethode hatte 1893 Haffkine empfohlen. Er hatte die Methode benützt, welche Pasteur gegen Milzbrand anwendete und welche aus Benützung der I. und II. Vaccine besteht. Nach den Injektionen beobachtete er Temperaturen von 37,5—38,6° C, die aber nicht länger als 24 Stunden dauerten. Die Haut rötete sich, war infiltriert und schmerzhaft. Manchmal traten Kopfschmerzen, selten Diarrhöe auf.

Die Resultate, welche mit der Haffkineschen Methode erreicht wurden, sind aus der nachstehenden Tabelle ersichtlich:

Schutzimpfung mit	Zeit zwischen der Schutzimpfung und Anfang der Erkrankung	Nicht Geimpfte			Schutzgeimpfte		
		Zahl	Cholera		Zahl	Cholera	
			Morbidität	Mortalität		Morbidität	Mortalität
I. Vaccine	2—6 Tage	729	6 0,82 Proz.	3 0,41 Proz.	193	0	0
I. V.) kleine II. V.) Dosis	3 Monate	797	19 2,38 Proz.	13 1,63 Proz.	71	0	0
I. V.) kleine II. V.) Dosis	14—15 Monate	640	120 18,75 Proz.	79 12,37 Proz.	133	18 13,53 Proz.	13 9,77 Proz.

Wie auch diese Tabelle beweist, ist unter den 193 nur einmal Schutzgeimpften gar keine Choleraerkrankung vorgekommen, obwohl zwischen der Schutzimpfung und Erkrankung nur 2—6 Tage verflossen waren und wir aus der Lehre der aktiven Immunisierung wissen, daß die Produktion der Schutzstoffe erst 4—5 Tage nach der Antigeninjektion beginnt, ja sogar die Empfänglichkeit gegen die betreffende Krank-

1) Bull. de l'Inst. Pasteur. T. 4. No. 17, 18.

2) Kraus u. Levaditi, Handb. d. Immunitätsforsch. Bd. 1. p. 776.

3) Bull. de l'Inst. Pasteur. T. 4. No. 17, 18.

4) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 51.

5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 51.

heit in den ersten 4 Tagen nach der Schutzimpfung größer ist. Dasselbe sehen wir bei jenen 71 Schutzgeimpften, welche 2 Impfungen bekamen und von der Krankheit noch nach 3 Monaten verschont blieben. Aus der letzten Rubrik der Tabelle ersehen wir aber zugleich, daß von den 133 zweimal Schutzgeimpften nach 14—15 Monaten 13,53 Proz. erkrankten und 9,77 Proz. auch starben, jedoch erkrankten von den unter denselben Verhältnissen lebenden und nicht schutzgeimpften 640 Menschen 18,75 Proz., also um 5,22 Proz., und starben 12,37 Proz., also um 2,6 Proz. mehr.

Daß die Empfänglichkeit innerhalb der ersten 4 Tage nach der Schutzimpfung größer ist, geht auch aus einer Erfahrung Haffkines gelegentlich einer großen Epidemie in Kalkutta 1899 hervor. Er beobachtete nämlich, daß sich unter den nicht Geimpften die Erkrankungsfälle am 1., 2., 3., 4., 5., 6., 9., 12. etc. Tage zeigten, dagegen unter den einmal Schutzgeimpften nur am 2., 3. und 4., weiter am 219., 421. und 459. Tage; also kamen vom 4. Tage nach der Impfung bis zum 219. Tage keine Erkrankungen vor, obwohl sie nur eine Schutzimpfung erhielten.

Ueber gleich günstige Resultate referiert auch Powell, der mit der Haffkineschen Methode arbeitete und im Jahre 1896—1899 in Indien folgendes fand:

Von 6549 Ungeimpften erkrankten	198 (3,02 Proz.)	und starben	124 (62,62 Proz.),
„ 5778 Geimpften	27 (0,46 „)	„	14 (51,85 „).

Beide besprochenen Methoden benützen also lebende Bakterien zu Schutzimpfungen, und es dürfte daher eben diesem Umstand zugeschrieben werden, daß sie sich in Europa nicht verbreiten konnten, speziell seitdem Kollé im Jahre 1896 bewiesen hat, daß man bei Benützung getöteter Kulturen nicht nur gleichwertige, sondern noch bessere Resultate erzielen kann.

Die Kollésche Methode ist folgende: Die junge Agarkultur wird in physiologischer Kochsalzlösung verrieben, wobei gesorgt werden muß, daß in 1 ccm 2 mg Kultur sei, dann wird diese Bakterienemulsion eine Stunde lang bei 58° C gehalten und nachher mit 1/2 Proz. Karbol vermengt. Aus diesem Impfstoff wird bei der ersten Inokulation 0,5 und nach einer Woche 1,0 ccm eingespritzt. Nach der Schutzimpfung entsteht nach Kollé eine Infiltration, leichtes Fieber, Kopfschmerzen, in etwa 10 Proz. der Fälle Diarrhöe, selten Erbrechen, welche Symptome jedoch binnen 1—2 Tagen verschwinden.

Ueber die Resultate dieser Methode gibt folgende Tabelle Muratas Aufklärung:

Von 825 287 nicht Geimpften erkrankten	1152 (0,13 Proz.)	und starben	863 (75,0 Proz.),
„ 77 907 Geimpften	47 (0,06 „)	„	20 (42,5 „).

Bei uns in Ungarn verfertigt Prof. Preisz nach der Kolléschen Methode den Schutzimpfstoff, jedoch mit der Abweichung, daß er die jungen Agarkulturen nicht bei 58° C, sondern bei 55° C mit einer 1-stündigen Erwärmung tötet. Diesen Impfstoff benützte ich bei meinen Schutzimpfungen, und zwar injizierte ich zum ersten Male 0,5 und nach einer Woche 1,0 ccm unter die Haut der Rückenfläche des Oberarmes. Man kann und pflegt die Einspritzungen an anderen Stellen vorzunehmen (Bauch, Brust etc.); ich meinerseits halte obige Stelle am geeignetsten, da ich Atembeschwerden nach Brust-, und Gehbeschwerden nach Bauch-einspritzungen beobachtete.

Vor den Einspritzungen überzeugte ich mich durch Aussaat auf

Agar und in Bouillon, ob der Impfstoff keine lebenden Bakterien enthält; im hängenden Tropfen sah ich, daß die Vibrionen ihre Gestalt ziemlich behielten; dies sah ich auch im gefärbten Präparat nach längerer Färbung. Es ist wichtig, sich vor der Einspritzung des Impfstoffes über dessen Reinheit zu überzeugen, da es schon vorkam, daß manche Untersucher fremde Bakterien (Staphylokokken) fanden. Ich selbst sah an zwei in einer Stadt geimpften Soldaten Abszesse nach der Schutzimpfung. Dies kann nur dann vorkommen, wenn man aus einer schon öfters geöffneten Flasche impft, bei welcher für Reinlichkeit nicht genügend gesorgt wurde. Hier will ich aber bemerken, daß eine Flasche bei genügender Fürsorge öfters geöffnet werden kann, ohne den Impfstoff zu infizieren. Ich pflege in solchen Fällen aus der großen Flasche so viel in eine sterile Schale zu schütten, wie ich für die vorzunehmende Impfung genügend erachte, und es ist mir eine Infektion des Impfstoffes nie vorgekommen. Es ist also unnötig, spezielle Flaschenschlußverfahren anzuwenden, wie dies Erdös¹⁾ empfiehlt. Eine besondere Fürsorge für Reinlichkeit ist ja auch am Platze, schon aus Sparsamkeit mit dem Impfstoffe; ich kann also den Rat, den Rest des Impfstoffes auszuschütten, wenn der Impfstoff am Eröffnungstage einer Flasche nicht ganz verbraucht wurde, keinesfalls billigen. Wir müssen ja auch an die große Inanspruchnahme der Impfstoffherstellungsinstitute denken und die von einem Arzte immer zu erwartende Reinlichkeit vor Augen halten. Ich mußte am 8. und 15. November 1914 die zwischen Ránffyhunyad-Gyéres bei den Tunneln und Eisenbahnbrücken auf Wache befindlichen Soldaten impfen; in Räumlichkeiten hatte ich selbstverständlich keine große Auswahl, doch etwas Jodbenzin und Alkohol hat das Seine getan, und es zeigte sich bei keinem eine Infektion.

Mit Bezug auf Sparsamkeit mit dem Impfstoff will ich noch bemerken, daß derselbe sich — an einem kühlen und dunklen Ort gehalten — sehr lange erhält. Diesbezüglich habe ich folgende Erfahrungen gemacht: Am 10. Juli 1915 wandte sich der Kollege Gustav v. Genersich mit der Frage an mich, ob der bei ihm seit November 1914 befindliche Impfstoff noch gut sei. Nachdem ich mich durch Aussaat auf Agar und in Bouillon überzeugete, daß der Impfstoff steril war, wurde ein Kaninchen mit 1,0 ccm subkutan geimpft und nachher der Agglutinin- und Bakteriolysegehalt des Serums geprüft. Am 10. Tage zeigte das Tier einen Agglutinititer von 1000 und einen Bakteriolyse-titer von 1600, und steht dieser Titer bei Verfassung dieser Zeilen, also nach 3 Monaten, noch in derselben Höhe. Dasselbe konstatierte ich auch am 8. September 1915 an einer anderen Flasche, welche ich vom Stadtphysikus Wilhelm Scheitz aus gleichem Grunde (Güte des Impfstoffes) erhielt. Der vom 19. November 1914 stammende Impfstoff war vollkommen rein, und es zeigte sich bei dem mit diesem geimpften jungen Mädchen eine so geringe lokale und allgemeine Reaktion, daß ich — wenn es erlaubt wäre, aus einem Fall allgemeine Schlüsse zu ziehen — der Ansicht wäre, ein länger gestandener Impfstoff sei für Impfzwecke empfehlenswerter, als ein ganz frischer, besonders bei empfindlicheren Personen. An Wirksamkeit wird nichts verloren, da der Agglutiningehalt bei diesem Mädchen am 10. Tage nach der Impfung 2400, der Bakteriolysegehalt 4000 war.

Was die Reaktion nach der Schutzimpfung anbelangt, so fand ich bei den 1392 zweimal Schutzgeimpften folgendes:

1) Erdös, Sparsamkeit mit dem Impfstoffe. (Orvosi Hetilap. 1915. No. 24.)

Nach der	I. Impfung	zeigten nur eine lokale Reaktion	1351 Personen,
"	"	I. " " geringes Fieber, Kopfschmerzen	41 "
"	"	II. " " nur lokale Reaktion	1334 "
"	"	II. " " geringes Fieber, Kopfschmerzen	58 "

Was die Höhe des Fiebers anlangt, so schwankte es zwischen 37,1—37,4° C, was also in solchen Fällen nicht einmal als Fieber betrachtet werden kann; nur in 4 Fällen beobachtete ich 37,8°, 37,9°, 38,7° und 39,3° C. — Brechneigungen sind in 7, Diarrhoen in 5 Fällen vorgekommen. Das Alter der Schutzgeimpften wechselte zwischen 3—60 Jahren, besonders viele waren im Alter von 6—14 Jahren. Bei Kindern unter 6 Jahren habe ich bei der ersten Impfung $\frac{1}{4}$, bei der zweiten 0,5 ccm injiziert.

Die lokale Reaktion zeigte sich in Form einer schmerzhaften Infiltration und Rötung, die jedoch in den meisten Fällen binnen 48 Stunden verschwanden und nur in einigen Fällen 4 Tage lang dauerten. Abszesse oder andere Komplikationen habe ich nach meinen Impfungen nicht konstatiert.

Den abnormen Abfall der Temperatur nach der Schutzimpfung, worauf Prof. Rigler meine Aufmerksamkeit gelegentlich meines Vortrages am 12. September 1914 lenkte, hatte auch ich innerhalb der ersten 4 Stunden nach der Schutzimpfung beobachtet. Ich beobachte in einem Falle 35,5°, in einem anderen Falle 35,7°, in einem Falle 35,8°, in 2 Fällen 35,9°, in 3 Fällen 36° und in 10 Fällen 36,2° C. Im ersten Falle hielt die Temperatur (35,5°) 24 Stunden lang an.

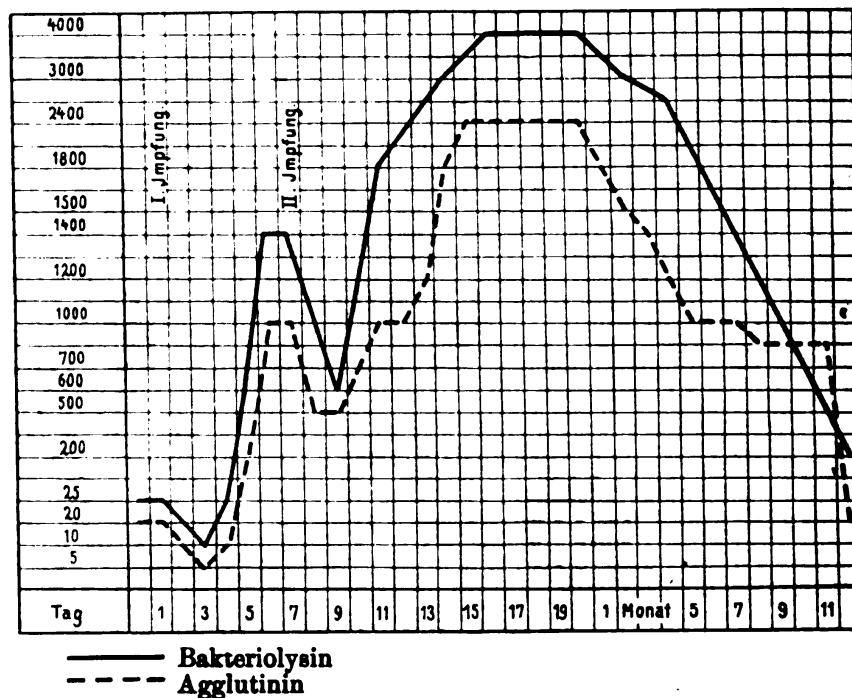
Aus den obigen Erfahrungen kann man also folgern, daß die Reaktion nach der Impfung für niemanden Grund sein kann, um sich der Impfung der Reaktion wegen zu entziehen.

Der Hauptzweck meiner Untersuchungen war, den Agglutinin- und Bakteriolysegehalt der Schutzgeimpften festzustellen, was in folgender Weise geschah: Die Agglutininuntersuchung geschah mit 20-stündigen Agarkulturen im hängendem Tropfen. Die junge Agarkultur wurde vorher in physiologischer Kochsalzlösung verrieben, um zu sehen, ob sich die Vibrionen von selbst zusammenballen oder nicht. Die Blutserumverdünnungen geschahen auch mit physiologischer Kochsalzlösung. Ich untersuchte bei jeder Agglutination eine ganze Serie der Serumverdünnungen und nahm als Titer diejenige Verdünnung, bei welcher sich die Vibrionen nach einem einstündigen Aufenthalt bei 37° C zusammenballten. Der Bakteriolysegehalt wurde mit dem Pfeifferschen Versuch bestimmt, und zwar wurde eine 2 mm große Oese umfassende junge Cholerakultur, mit der entsprechenden Serumverdünnung verrieben, in die Bauchhöhle eines gesunden Meerschweinchens eingespritzt, nach 30 Minuten mittels eines Kapillarröhrchens herausgenommen und im hängenden Tropfen untersucht. Als Titer nahm ich jenen Wert, wo die Vibrionen in Körnchen zerfallen waren, auf Agar nicht aufgingen und das Tier am Leben blieb; hingegen ging das mit derselben Menge, aber ohne Serum inokulierte Meerschweinchen binnen 24 Stunden zugrunde, und die Aussaat des Bauchinhaltes ergab eine typische Cholerakultur.

Der Stand des Agglutinin- und Bakteriolysegehaltes ist aus der Skizze p. 344 zu entnehmen, und zwar wurde der Gehalt anfangs täglich, dann monatlich registriert.

Wie auch die Skizze beweist, agglutiniert das normale Blutserum (Wert von 10 Personen) die Choleravibrionen bei einer Verdünnung von 1:20. Dieser Agglutiningehalt sinkt nach der ersten Injektion des Impfstoffes innerhalb der ersten 24 Stunden auf 10, nach 48 Stunden

auf 5. Nach 3×24 Stunden fängt der Agglutiningehalt an, sich zu vermehren, erreicht jedoch erst am 5. Tage seinen ursprünglichen Wert, steigt dann rasch in die Höhe und steht nach 6×24 Stunden bei 1000. Nach der jetzt folgenden zweiten Impfung sinkt er abermals, und zwar binnen 24 Stunden von 1000 auf 500, und fängt erst nach 2 Tagen wieder an, in die Höhe zu steigen, erreicht aber nur nach 4×24 Stunden jene Höhe, bei welcher er am Ende der ersten Impfung stand. Von nun an geht die Steigung sehr rapid und erreicht nach einer Woche die Höhe von 2400. Das ist aber der höchste Punkt, wobei er 2—3 Wochen lang bleibt, dann sinkt er langsam und steht nach 1 Monat bei 1800, nach 2 Monaten bei 1500, nach 3 bei 1400, nach 4 schwankt er zwischen 1200 und 1000, dann bleibt er mehrere Monate hindurch (in manchen Fällen 5 Monate hindurch) bei 1000, dann 3 Monate lang zwischen 800 und 600 und steht nach einem Jahre dort, wo er vor der Schutzimpfung war.



Was den Bakteriolysegehalt anlangt, so sehen wir, daß das Blutserum unter normalen Verhältnissen bei einer Verdünnung von 1:25 die Choleravibrionen aufzulösen imstande ist. Dieser Gehalt sinkt nach der ersten Schutzimpfung ebenfalls, steht nach 48 Stunden bei 10, steigt dann in die Höhe, jedoch viel rascher, als der Agglutiningehalt, und steht nach einer Woche bei 1400. Nach der zweiten Impfung sinkt er wieder, um nach 3 Tagen wieder in die Höhe zu steigen, und zwar derart, daß er schon am 9. Tage die Höhe von 4000 erreicht. Bei dieser Höhe bleibt er dann 2—3 Wochen lang, sinkt dann langsam, steht nach 1 Monat bei 3500, nach 2 bei 3000, nach einem Jahre — wo schon gar kein Agglutiningehalt im Blutserum ist — bei 200.

Die vorangeführte Skizze zeigt auch in sehr lehrreicher Weise jene in der Lehre der aktiven Immunisierung schon wohlbekannte Tatsache, daß sich die Schutzstoffe des Organismus nach Einführung eines Antigens verringern und daß diese Verringerung sowohl nach der ersten als auch

nach der zweiten Schutzimpfung 3—4 Tage lang anhält. Daß dies ein biologisches Gesetz ist, ersehen wir daraus, daß es sich bei jeder Wiederholung der Antigen-Einführung zeigt. Diese Tatsache zu kennen, ist in praktischer Hinsicht von sehr großer Wichtigkeit, da während dieser sogenannten negativen Phase jeder Organismus gerade für jene Krankheit, gegen welche wir ihn eben immunisieren wollten, sehr empfänglich ist, weshalb er besonders vorsichtig leben und die Gelegenheit einer Infektion vermeiden muß. Aus diesem Grunde darf auch die zweite Dosis des Schutzimpfstoffes nicht kurz nach der ersten folgen, und es muß zwischen den zwei Impfungen mindestens ein Zeitraum von 6×24 Stunden sein. Für solche Leute, welche sich voraussichtlich mit Cholerakranken befassen müssen, ist es notwendig, eben diese erhöhte Empfänglichkeit in den ersten 3—4 Tagen zu berücksichtigen, sich der Impfung schon 10 Tage früher zu unterziehen, nicht aber erst dann, wenn sie mit Cholerakranken schon in Berührung kamen und eventuell bereits infiziert sind, da in solchen Fällen die Schutzimpfung gefährvoll werden kann.

Dies war meine Ansicht im obengenannten Vortrage, was auch die allgemeine Auffassung über die Bedeutung der negativen Phase deckt, doch scheinen die wenigen Erfahrungen, welche uns der Weltkrieg lieferte und die bisher veröffentlicht wurden, dagegen zu sprechen. So fanden z. B. Buiwid und Arzt¹⁾ ²⁾, daß eine negative Phase nicht zu bestehen scheint. Nach ihrer Beobachtung zeigten Erkrankungen, die innerhalb der ersten Woche nach der Impfung auftraten, keinen schwereren Verlauf, als die anderen; sie empfehlen daher auch, beim Auftreten einer Choleraerkrankung alle mit dem Erkrankten in engeren Kontakt gekommenen Personen unbedenklich zu impfen. Ich möchte dies aber nicht so kategorisch hinstellen, wie es die Verff. tun, wo sie sagen: „Für die Gefahr einer negativen Phase fehlen also alle Anhaltspunkte“, da Arzt selbst in einer anderen Mitteilung³⁾ einen solchen Fall beobachtete, in welchem man die Bedeutung der negativen Phase nicht leicht ausschließen kann. Es handelte sich bei ihm um eine Pflegerin, die 38 Stunden nach der ersten Impfung mit Cholerakranken in Berührung kam und 5 Tage darauf erkrankte. Der Fall verlief, wie es Arzt mitteilt, sehr milde; dies kommt ja aber auch ein andermal vor, so daß man die Bedeutung der negativen Phase nicht eliminieren kann. Wir wissen ja aus den Erfahrungen von Savas, Ueber die Cholerashutzimpfung in Griechenland (Wien. klin. Wochenschr. 1914), daß er kurz nach der Impfung foudroyante Infektionen sah, „so daß an das Eintreten einer negativen Phase zu denken war“. Wie steht nun die Sache in denjenigen Fällen, in welchen die Impfung bei schon bereits Erkrankten vorgenommen wurde? Solche Fälle haben sowohl Buiwid, als Arzt beobachtet. Nach ihrer Meinung hatte eine solche Impfung keinerlei Schädigung zur Folge, die Erkrankung verlief vielmehr sehr leicht. Auch Hainiss⁴⁾ berichtet über solche Fälle. Der Befehl No. 46 des Mil. Kmdos Nagyszeben vom 17. Juni 1915 weist auch auf die

1) Ueber Cholera asiatica. (Wien. klin. Wochenschr. 1914; refer. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 63.)

2) Ueber Cholerashutzimpfung. (Ebenda 1915; refer. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 63.)

3) Ueber Cholera und Choleravaccination. (Ebenda 1914; refer. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 63.)

4) Tábori orvosi levél. (Gyógyászat. 1915. No. 22).

günstige Wirkung solcher Impfungen hin. Nun kann man aber aus diesen Mitteilungen nicht mit Sicherheit entnehmen, ob diese Erkrankten früher keiner Schutzimpfung unterzogen worden waren, denn — wenn sie schon Schutzgeimpft waren — dann ist der milde und kürzere Verlauf der Erkrankung leicht zu verstehen. Bis wir also diese Verhältnisse nicht kennen, dürfen wir den Wert der Impfungen bei bereits Erkrankten nicht überschätzen. Der Choleraimpfstoff ist ja kein Serum, und deshalb kann man denselben zu Heilzwecken nicht benützen. Er ist und bleibt ein prophylaktisches Mittel; aus diesem Grunde sollte er bei schon bereits Erkrankten nicht benützt werden.

Hinsichtlich der negativen Phase ist es noch wichtig, zu erörtern, ob in solchen Fällen, wo man verschiedene Schutzimpfstoffe gleichzeitig oder kurz nacheinander anwendet, der eine den anderen nicht beeinflußt. In dieser Richtung hat Schmitz¹⁾ Untersuchungen angestellt, als er Cholera- und Typhusimpfstoff zugleich einimpfte. Das Resultat war vollkommen gut, die Reaktionen verstärkten sich nicht. Wassermann²⁾ ist ebenfalls gleicher Ansicht. Ich selbst konnte das Gleiche beobachten, und kann behaupten, daß man 4 Tage nach der ersten Typhusimpfung ganz beruhigt die erste Choleraimpfung machen kann und so weiter in je 4 Tagen, wodurch man binnen kurzer Zeit, was beim Militär sehr wichtig ist, die Immunisierung gegen zwei Krankheiten beenden kann, ohne die Produktion der einzelnen Schutzstoffe zu hindern, was ja selbstverständlich ist, denn diese Stoffe sind streng spezifisch.

Bezüglich der negativen Phase muß ich jedoch bemerken, daß sich dieser Begriff eigentlich nicht auf die Veränderung des Agglutinin- und Bakteriolysegehaltes, sondern auf Opsonin bezieht. Der Ähnlichkeit wegen kann man den Begriff aber auch bei diesen anwenden.

Wir sehen also, daß sich im Blutserum nach der Schutzimpfung Agglutinine und Bakteriolyse bilden. Aus diesem Gesichtspunkte wird es interessant sein, diese Antikörper im Blutserum solcher Personen zu kennen, die an natürlicher Cholerainfektion gelitten haben. Ich hatte Gelegenheit, an 3 solchen Genesenen Untersuchungen zu machen. Der erste litt vom 23.—26. Oktober 1914 an Cholera; er hatte keine Schutzimpfung bekommen. Nach seiner Genesung ist er am 21. Nov. 1914 nach Kolozsvár gekommen. Am 22. und 23. Nov. 1914 konnte ich — trotz der sorgfältigsten bakteriologischen Untersuchung — in seinen Faeces keine Choleravibrionen finden, was im übrigen keinesfalls zu verwundern ist, da der Choleravibrio im Darm nicht sehr lange zu leben pflegt. Ich wollte mich aber von der tatsächlichen Infizierung überzeugen, denn es ist ja bekannt, daß sich die klinischen Symptome und der bakteriologische Befund nicht immer decken. Um dies sicher entscheiden zu können, ist mir kein anderer Weg geblieben, als den Agglutiningehalt des Blutserums zu untersuchen, von dem wir ja aus den Untersuchungen Widal's wissen, der die Agglutination zu klinischen Zwecken zuerst benutzte, daß dies das sicherste Zeichen einer geschehenen Infektion ist. Am 4. Dez. 1914 stand sein Agglutinititer bei 1200. Bemerken muß ich, daß ich sowohl in diesem Falle, als auch bei den übrigen Untersuchungen ein und denselben Cholerastamm benutzte, und zwar jenen, den ich am 13. Nov. 1914 vom Prof. Preisz eigenhändig holte und welchen er zur Erzeugung des Schutzimpfstoffes benutzte. Der Bakteriolyseintiter stand in diesem Falle bei 3000. Wir sehen also, daß

1) Berlin. klin. Wochenschr. 1915. No. 7.

2) Zeitschr. f. ärztl. Fortbildg. 1915. No. 3.

der Agglutinititer 6 Wochen nach der Genesung kleiner ist als bei den Schutzgeimpften nach 2 Monaten; der Bakteriolytiter ist dagegen gleich.

In einem zweiten Falle erkrankte ein Assistenzarzt, der ebenfalls nicht schutzgeimpft war, am 20. Sept. 1914 an Cholera. Am 12. Januar 1915, also $3\frac{1}{2}$ Monate nach der Genesung, stand sein Agglutinititer bei 400, der Bakteriolytiter bei 1000. In einem dritten Falle litt der nicht schutzgeimpfte Oberleutnant am 8. Nov. 1914 an Cholera und kam am 27. Nov. 1914 als Genesener nach Kolozsvár. Sein Agglutinititer stand am 21. Juli 1915 bei 600, der Bakteriolytiter bei 1000. In allen drei Fällen ist also der Antikörpergehalt kleiner als bei den Schutzgeimpften. Man darf hieraus aber keinesfalls den Schluß ziehen, daß die Immunität auch gleich oder sogar kleiner ist. Wir wissen nämlich aus den Untersuchungen und Erfahrungen Pfeiffers, daß dies der Fall ist, doch ist die Immunität selbst nach der leichtesten Choleraerkrankung weit größer als nach der Schutzimpfung, was Pfeiffer damit erklärt, daß nach einer natürlichen Infektion im Darne eine sogenannte lokale (histogene) Immunität entsteht, welche die Ansiedlung und Vermehrung der Choleravibrionen erschwert; nach der Schutzimpfung entsteht dagegen eine derartige Immunität in viel schwächerem Grade. Dennoch ist es beruhigend und spricht für den Erfolg der Schutzimpfung der Umstand, daß nach der künstlichen Immunisierung im Blute gleiche Antikörper entstehen, wie bei nach einer natürlichen Erkrankung genesenen Menschen. Dies soll als Warnung für solche dienen, die da glauben, daß — wenn man einmal schutzgeimpft ist — jedwede Vorsicht überflüssig ist. Im Gegenteil, man muß alle behördlichen und persönlichen Schutzmaßregeln, mit welchen wir uns vor der Zeit der Schutzimpfung schützen konnten, streng einhalten, da die Schutzimpfung die Erkrankung nicht ausschließt, nur pflegt — nach den bisherigen Erfahrungen — der Verlauf der Krankheit leichter zu sein; es kommen aber auch Todesfälle vor, wie dies aus folgenden Daten zu entnehmen ist: Bujwid und Arzt sahen, daß unter 63 ein- oder mehrmals gegen Cholera geimpften, später an Cholera erkrankten Soldaten die Erkrankung bei 44,5 Proz. leicht, bei 9,5 Proz. mittelschwer, bei 39,7 Proz. schwer und bei 6,3 Proz. letal verlief. Sinnhuber¹⁾ fand in einem Gefangenenlager folgendes: Es traten unter den gegen Cholera Geimpften 15 Cholerafälle auf, darunter 13 nach einmaliger, 2 nach zweimaliger Impfung. Nur ein Fall verlief mittelschwer, alle übrigen leicht. Unter den an Zahl geringen Nichtgeimpften waren allein an Todesfällen 79 zu verzeichnen. Nach Kaup²⁾ erkrankten bei einer Armee von 10 000 Einmalgeimpften 15, von 10 000 Zweimalgeimpften nur 1—2 Personen, von 10 000 Ungeimpften 50. Bei einer anderen Armee starben von 1861 Ungeimpften 29,3 Proz., von 299 Zweimalgeimpften 1 Proz. Bei einer 3. Armee erkrankten von den Zweimalgeimpften, auf 10 000 berechnet, nur 1 Mann, bei den Einmalgeimpften 3, bei den Ungeimpften 20. Nach Savas³⁾ betrug die Choleramorbidity bei den Ungeimpften 93 Proz. und sank bei den Einmalgeimpften auf 42 Promille, bei den Zweimalgeimpften auf 7 Prom. Die Mortalität der Ungeimpften betrug 27,5 Proz., bei den Einmalgeimpften 12,2 Proz., bei

1) Die Bekämpfung der Kriegsseuchen durch Schutzimpfung. (Deutsche med. Wochenschr. 1915; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 63.)

2) Ueber den Wert der Cholerashutzimpfung im Felde. (Münchener med. Wochenschr. 1915.)

3) Ueber die Cholerashutzimpfung in Griechenland. (Wien. klin. Wochenschr. 1914.)

den Zweimalgeimpften 10,2 Proz. Von 2897 Sanitätsmannschaften, die zum größten Teile zweimal geimpft waren, der Infektionsgefahr aber besonders ausgesetzt waren, erkrankten nur 13. Im Militärkommandobefehl No. 46 (Nagyszeben, 17. Juni 1915) wurde verlautbart, daß bei der 2. Armee von den Einmalgeimpften (mit 1,0 ccm) 5 Proz. starben und daß der Verlauf auffallend mild war. Auch Hainiss hebt hervor, daß unter 106 geimpften Sanitätssoldaten, die neben Cholerakranken beschäftigt waren, 2 an Cholera erkrankten; der eine blieb am Leben, der andere starb.

Wie auch diese Angaben bestätigen, hängt sowohl die Morbidität als auch die Mortalität von der Zahl der Impfungen und von der Menge des Impfstoffes ab. In dieser Beziehung — was den Agglutinin- und Bakteriolysegehalt anbelangt — habe ich folgende Erfahrungen gemacht:

- a) Der 1mal mit 0,5 ccm am 20. Nov. 1914 schutzgeimpfte Kollege N. K. zeigte am 22. Juli 1915 einen Agglutinititer von 400 und einen Bakteriolysegehalt von 600.
- b) Der Anfang Oktober 1914 zuerst mit 0,2 ccm und nach 1 Woche mit 0,4 ccm geimpfte Z. V. hatte am 26. Juni 1915 einen Agglutinititer von nur 200 und einen Bakteriolysegehalt von 300.
- c) Der zwischen dem 20. und 30. Okt. 1914 1mal mit 0,5 ccm geimpfte Oberleutnant F. M. zeigte am 4. Juli 1915 einen Agglutinititer von 400.
- d) L. J., Anfang Oktober 1914 1mal mit 0,5 ccm geimpfter Sanitätssoldat, hatte am 4. Juli einen Agglutinititergehalt von 400 und einen Bakteriolysegehalt von 400.
- e) Der Feldwebel R. S., zwischen 10. und 20. Nov. 1914 1mal mit 0,5 ccm geimpft, zeigte am 19. Juli 1915 einen Agglutiningehalt von 400, einen Bakteriolysegehalt von 600.
- f) Der Apotheker M. K. wurde am 14. Dez. 1914 1mal mit 1,0 ccm geimpft und zeigte am 17. Febr. 1915 einen Agglutinititer von 1400, am 7. Juli einen solchen von 1000.
- g) Der im Oktober 1914 2mal mit je 0,5 ccm geimpfte Assistenzarzt L. Cs. hatte am 24. Juni 1915 einen Agglutinititer von 800.

Die Quantität der Antikörper hängt aber auch vom Zustande und der Lebensweise des Schutzgeimpften ab. In dieser Beziehung fand ich, daß bei 4 solchen Personen, die täglich und ausreichend dem Alkohol huldigen, sich nur wenig Antikörper bildeten. So ist z. B. der Agglutinititer eines am 21. Okt. 1914 mit 0,5 ccm und am 28. Okt. 1914 mit 1,0 ccm Schutzgeimpften am 4. Juli 1915 nur 400, der Bakteriolysegehalt nur 500 gewesen. In 3 anderen Fällen war der Agglutinititer der am 28. Okt. 1914 mit 0,5 und am 4. Nov. 1914 mit 1,0 ccm Schutzgeimpften am 16. Januar 1915, also nach 2½ Monaten, nur 600, und der Bakteriolysegehalt nur 700. Ich will, und man darf auch nicht, aus diesen 4 Fällen allgemeine Schlüsse in bezug auf Alkoholismus und Antikörperbildungsfähigkeit ziehen, doch ist dies allenfalls bedenklich, überhaupt wenn man Laitinens Erfahrungen über die Rolle des Alkohols in Betracht nimmt und Pampoukis Angaben bezüglich Antikörpererzeugung gegen Lyssa bei Alkoholisten vor Augen hält, wonach solche Personen trotz der Schutzimpfung an Tollwut starben. Das Gleiche können wir auch aus Székelys¹⁾ jetzt erschienenen Mitteilung lesen, worin er über die Erfahrungen des Budapester Pasteur-Institutes in den ersten 25 Jahren referiert und diesbezüglich sagt, daß das Infektionsmaterial der Lyssa nach der Schutzimpfung noch lange Zeit im Organismus latent bleiben und bei eventuellen Empfindlichkeitszuständen wieder in Aktion treten kann. Hauptsächlich Alkoholismus, schlechte Ernährung und ungünstige Beeinflussung des Nervensystems können als solche Empfindlichkeitszustände in Betracht kommen, sagt Székely.

Hinsichtlich der Antikörperbildung halte ich es für interessant, auch über jene Erfahrungen zu referieren, welche ich an solchen Personen

1) Orvosi Hetilap. 1915. No. 41.

machte, die bei der Verringerung ihres Antikörpergehaltes sich der Impfung abermals unterzogen haben, respektive auf Befehl ihres Kommandos sich unterziehen mußten, da das Militärkommando anordnete, alle jene Personen, welche innerhalb 5 Monaten nicht geimpft wurden, neuerdings zu impfen. Ich verfüge über 17 so geimpfte Personen. Von diesen habe ich an fünf 7 Tage hindurch systematisch die Blutuntersuchungen durchgeführt und fand:

1) Bei dem am 14. Oktober 1914 mit 0,5 und am 21. mit 1,0 ccm geimpften Assistenzarzt H. R. war am 11. Mai 1915 der Agglutinintiter 800. Mit Rücksicht darauf, daß er ins Feld gehen mußte, wollte er mehr Antikörper haben und bekam jetzt wieder 0,5 ccm. Die negative Phase war sehr ausgesprochen. 24 Stunden nach der Impfung sank sein Agglutinin von 800 auf 100 und blieb 48 Stunden lang so. Nach 3×24 Stunden stand dieser Wert auf 300, nach 4×24 Stunden bei 700, nach 5×24 Stunden bei 1400, nach 6×24 Stunden bei 2000 und nach 7×24 Stunden bei 3000. Der Bakteriolysegehalt war am letzten Tage 4000.

2) Der Agglutinintiter des am 14. und 21. Oktober 1914 mit 0,5 resp. 1,0 ccm schutzgeimpften Grafen S. T. stand am 20. Juni 1915 ebenfalls bei 800. Am 21. Juni wurde er mit 0,5 ccm geimpft. Sein Agglutinintiter zeigte 7 Tage hindurch folgende Schwankungen: 200, 100, 300, 700, 1400, 2000 und 3000. Der Bakteriolysegehalt war am letzten Tage 5000.

3) L. Cs. wurde Mitte Oktober 1914 2mal mit je 0,5 ccm geimpft; er hatte am 31. Mai 1915 einen Agglutinintiter von 800, bekam an diesem Tage 1,0 ccm Impfstoff, worauf sein Agglutinintiter 7 Tage später bei 3000 stand.

4) E. L. hatte am 24. Juni 1915 einen Titer von 800, wurde damals mit 1,0 ccm geimpft und hatte nach 7 Tagen einen Agglutinintiter von 3000.

5) J. B. hatte am 24. Juni 1915 einen Agglutinintiter von 1000, ließ sich 1,0 ccm injizieren und zeigte nach 1 Woche einen Agglutinintiter von 3000, einen Bakteriolysegehalt von 10000.

Das Gleiche fand ich bei allen anderen auf solche Weise Geimpften, bei welchen ich jedoch nur vor der Impfung und 1 Woche nach derselben Blutuntersuchungen machte. Der Agglutinintiter, welcher vor der Neuimpfung bei 800—1000 stand, erhöhte sich nach einer erneuten Impfung von 0,5 ccm auf 3000.

Diese Untersuchungen beweisen also, daß nach jeder Antigeneinspritzung die negative Phase eintritt, was ja nur natürlich ist; daß eine einmalige Impfung bei schon Geimpften vollkommen genügt, und daß es ganz überflüssig ist, eine größere Dosis als 0,5 ccm in solchen Fällen zu verabreichen, da die Menge der Antikörper bei zum dritten Male mit 1,0 ccm Geimpften die gleiche war, wie bei denjenigen, die nur 0,5 ccm bekamen. Diesen Umstand halte ich für sehr wichtig, einerseits zur Vermeidung der Reaktionen, andererseits wegen des Zeitgewinns und der Impfstoffersparnis. Dies zu wissen, ist speziell im Etappenraume und besonders am Kriegsschauplatze wichtig.

Wir sahen also oben, daß die Agglutinine bei den Schutzgeimpften nach 1 Jahre gänzlich verschwinden; wie steht es aber diesbezüglich bei von Cholera Genesenen? Ich bin in der glücklichen Lage, einen von den vorher beschriebenen Dreien fortwährend vor Augen zu haben und bei diesen Blutuntersuchungen fortzusetzen. Mitte Oktober 1915, also beinahe 1 Jahr nach der Genesung, besitzt derselbe einen Agglutinintiter von 300 und einen Bakteriolysegehalt von 800. Die durch natürliche Infektion erworbene Immunität ist also bei weitem stärker, als die durch künstliche Impfung hervorgerufene, was ja auch natürlich ist.

Was nun die Wirkung und den Wert der Schutzimpfungen anlangt, so füge ich neben den schon oben erwähnten alle diejenigen Fälle an, welche in älterer und jüngerer Zeit von verschiedenen Autoren über Menschen gesammelt worden sind, die unter gleichen Verhältnissen gelebt und die den Wert eines Laboratoriumsversuches haben. Die ältesten

sind Ferráns¹⁾ hier folgenden Beobachtungen: Zwischen dem 25. bis 27. Juni 1885 impfte er in Valenzia 5 Menschen, welche am 10. Juli desselben Jahres in eine Gegend fuhren, wo seit 3 Wochen eine Cholera-epidemie herrschte. Nach einer 4-tägigen Quarantäne ist ihnen die Ansiedelung in einem solchen Hause erlaubt worden, wo 13 Nichtgeimpfte wohnten. Die Geimpften und Nichtgeimpften wohnten also zusammen, tranken das gleiche Wasser, aßen dieselbe Kost, benutzten denselben Abort. Am 23. Juli, also nach 8-tägigem Zusammensein, erkrankte von den Ungeimpften einer und starb am 25.; am 24. bekommt der Sohn des Vorerwähnten die Cholera und starb den nächsten Tag. Am 25. und 26. erkrankten noch 6 andere Ungeimpfte, welche alle starben. Ein Kind, das ebenfalls ungeimpft war, mit seinem geimpften Onkel in einem Bette schlief und dessen Exkremente den Mitschlafenden beschmutzten, bekam auch die Cholera, der Onkel blieb aber verschont. Wir sehen also, daß von den 13 Ungeimpften 8 an Cholera erkrankten und daran starben, von den 5 Geimpften dagegen keiner, obwohl die Möglichkeit einer Infektion im höchsten Maße vorhanden war. Mit Recht hebt Ferrán hervor, daß es selbst der raffiniertesten Ausrede unmöglich ist, die Beweiskraft dieser Fälle zu stürzen. Beweiskräftig sind auch jene Beobachtungen Ferráns, welche er an fünf 5—8-gliedrigen Familien machte, wo, mit Ausnahme je eines Gliedes, alle geimpft waren, und wo ausschließlich nur die Ungeimpften an Cholera erkrankten und starben, dagegen die Geimpften nicht einmal daran erkrankten. Ein gleiches Resultat zeigte sich bei den in Choleraspitälern angestellten Aerzten: in einem Spitale waren 3 unter 4, in einem anderen 11 unter 13 geimpft. Die 14 Geimpften blieben verschont, die 3 Ungeimpften starben. Ebenso blieben die in dieser Gegend praktizierenden 300 Aerzte, welche alle schutzgeimpft waren, am Leben.

Wir sehen also, daß Ferrán mit seiner Methode bereits im Jahre 1885 ausgezeichnete Resultate erzielte und in keinem Falle die gering-schätzende Kritik verdient, welche ihm damals und selbst heute seitens französischer, russischer und englischer Autoren zuteil ward, die ihm jetzt noch nachträglich vorwerfen, daß er wahrscheinlich nicht mit Reinkulturen arbeitete, wo doch damals, vor 30 Jahren, sich nur wenige Forscher rühmen konnten, daß sie mit Reinkulturen arbeiteten.

Nun sollen einige Beobachtungen registriert werden, welche mit der Haffkineschen Methode erzielt wurden und welche — wie Haffkine sagt — auch „den Wert eines Laboratoriumsversuches“ haben. In einem Zuchthause hat Macrae die Hälfte der Gefangenen geimpft, als zwischen ihnen 6 Choleraerkrankungen mit 5 Todesfällen vorkamen.

Innerhalb der ersten 5 Tage nach der ersten Impfung sind
 von 210 Ungeimpften 7 (3,3 Proz.) erkrankt und 5 (2,38 Proz.) gestorben,
 „ 212 Geimpften 5 (2,36 „) „ „ 4 (1,89 „) „

Innerhalb von 5 Tagen nach der zweiten Impfung sind
 von 197 Ungeimpften 9 (4,57 Proz.) erkrankt und 4 (2,03 Proz.) gestorben,
 „ 206 Geimpften 3 (1,46 „) „ „ 1 (0,48 „) „

Endlich sind in den 4 letzten Tagen der Epidemie
 von 192 Ungeimpften 4 (2,09 Proz.) erkrankt und 1 (0,51 Proz.) gestorben,
 „ 201 Geimpften 0 „ „ 0 „

In einem anderen Zuchthause hat Brown die Hälfte der Gefangenen in einer Zeit geimpft, als unter ihnen 14 Erkrankungen mit 10 Todesfällen vorgekommen waren.

Von den 99 Ungeimpften erkrankten 11 (11,1 Proz.) und starben 11 (100 Proz.).
 „ „ 110 Geimpften „ 5 (4,50 „) „ „ 3 (2,7 „).

1) Berl. klin. Wochenschr. 1912 No. 10.

Einschlägig ist die Beobachtung von Simpson aus den Jahren 1895—96, welche er in 77 Häusern machte, in welchen Geimpfte und Ungeimpfte beisammen wohnten und in welchen überall Cholerafälle vorkamen. In den 77 Häusern wohnten 1056 Menschen, von welchen 402 geimpft, 654 dagegen nicht geimpft waren.

Von den 654 Ungeimpften starben 71 (10,86 Proz.),

„ „ 402 Geimpften „ 12 (2,9 „).

Wenn wir jetzt vergleichsweise den Wert der Haffkineschen und Ferránschen Methode unvoreingenommen beurteilen, dann müssen wir zum Schlusse gelangen, daß die Erfolge Ferráns die Haffkineschen übertreffen, und es wundert uns wahrlich, wie Haffkine und seine Schule eine solch vernichtende Kritik über Ferráns Methode abgeben konnten.

Was schließlich den Wert der jetzt allgemein angewendeten Kolléschen Methode anlangt, so hat außer den oben besprochenen Erfahrungen auch Murata solche, die den Wert eines Laboratoriumsversuches haben. Es herrschte im Jahre 1902 in Japan eine Epidemie, in welcher vor Beginn der Schutzimpfungen an einem Orte 1299 Menschen erkrankten und die Mortalität enorm hoch: 73,3 Proz. war. Die Beobachtungen sind folgende:

1) In Ortschaften, welche in der Nähe eines in großem Maße infizierten Ortes lagen und mit diesem in ständigem Verkehr waren, wurden alle geimpft. Es erkrankte keiner.

2) In einer Kolonie, wo 159 Menschen wohnten, wurden, mit Ausnahme von 3, alle schutzgeimpft. Von den 3 Ungeimpften erkrankte und starb 1, unter den Schutzgeimpften keiner.

3) In einer Beamtenfamilie ließ sich jeder impfen, mit Ausnahme der Frau. Sie allein erkrankte an Cholera.

4) Von den 100 Angestellten eines Geschäftes wurden, mit Ausnahme eines, alle geimpft. Später erkrankte nur dieser eine.

Diesen wirklich günstigen Resultaten ist es zuzuschreiben, daß heutzutage überall die Kollésche Methode benützt wird, welcher nicht nur das bessere Resultat, sondern auch der Umstand zum Vorteil gereicht, daß sie vollkommen gefahrlos ist, sogar dann, wenn der Impfstoff zufällig ausgeschüttet wird, wohingegen der aus lebenden Vibrionen bestehende Impfstoff in solchen Fällen eine riesige Gefahr verursachen könnte.

Aus der jüngsten Zeit sprechen für den günstigen Wert dieser Methode folgende Angaben: Zabolotny¹⁾ hat während der Epidemie 1907/8 in Rußland gefunden, daß von 10000 Ungeimpften 68 und von 30000 Geimpften nur 12 an Cholera erkrankten, wovon 4 starben. Neumann²⁾ berichtet über die Choleraepidemie in Rumänien im Jahre 1913. Als Rumänien im Juli 1913 gegen Bulgarien mobilisierte, herrschte in Bulgarien die Cholera. Die Folge davon war, daß die rumänische Armee sich sehr bald infizierte. Innerhalb 3 Wochen nach Beginn des Krieges waren in der rumänischen Armee 2600 Fälle festgestellt worden und bis Mitte Oktober in der Zivilbevölkerung 6000. Ueber die Wirkung der Schutzimpfungen äußert sich Neumann²⁾ sehr günstig: Es wurden 200000 Militär- und 100000 Zivilpersonen geimpft, letztere zum Teil zwangsweise. Die Impfung wurde von Babes in der Weise ausgeführt, daß in einem Intervall von 6 Tagen zweimal geimpft wurde, und zwar das erstemal mit 3—4 mg und bei der zweiten Impfung mit 5—8 mg, also mit wesentlich höheren Dosen, als üblich ist. Die Schutzwirkung war eine hervorragende. Cardamatis³⁾ hat während des griechisch-bulgarischen Krieges 50000 Personen geimpft, und der Erfolg war ein ausgezeichneter. Savas hat auch während des griechisch-bulgarischen Krieges beim Heere und bei der mazedonischen Bevölke-

1)—3) Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 45 u. 63.

rung die Schutzimpfungen im großen Maße durchgeführt. Die Erfolge waren sehr günstig.

Ueber Erfolge aus dem jetzigen Kriege haben Kaup¹⁾, Bujwid²⁾, Arzt³⁾, Sinnhuber⁴⁾, Weißkopf⁵⁾ und Herschmann⁶⁾ schon referiert und konnten beobachten, daß nach Einführung der Schutzimpfung die Epidemien überall zum Erlöschen kamen. Die Endresultate dieser Schutzimpfungen werden wir aber erst nach Beendigung des Krieges kennen lernen.

Was nun die in praktischer Hinsicht wichtigste Frage anlangt, nämlich, wie lange die Immunität nach der Schutzimpfung dauert, so kann ich darüber folgendes sagen: Die älteste diesbezügliche Angabe stammt von Simpson⁷⁾, der in Indien mit der Haffkineschen Methode arbeitete und während den Jahren 1895/6 folgendes fand:

Nach 437 Tagen starben unter	502 Ungeimpften	42 (8,37 Proz.)
„ 437 „ „ „	269 Geimpften	1 (0,37 „)
„ 748 „ „ „	238 Ungeimpften	23 (9,66 „)
„ 748 „ „ „	96 Geimpften	6 (6,25 „)

Die Immunität dauert nach Haffkine und seinen Mitarbeitern 14 Monate, nach Kolle 1 Jahr, nach Barykin 7—9 Monate lang.

Nach meinen Erfahrungen dauert diese Immunität — wenn man aus dem Agglutinin- und Bakteriolysegehalt darauf schließen kann — 1 Jahr lang.

Zum Schlusse noch einige Worte bezüglich der Frage: Wann ist es notwendig, den schon Geimpften wieder zu impfen? Wir sahen sowohl aus der einschlägigen Literatur als auch aus meinen Erfahrungen, daß die Schutzstoffe 1 Jahr lang im Blutserum vorhanden sind. Aus dieser Tatsache folgernd genügt es, die Schutzimpfung erst nach 10 bis 12 Monaten zu wiederholen, was sowohl bezüglich der Vermeidung der Reaktion als auch bezüglich der Impfstoffersparung von Wichtigkeit ist.

Aus meinen Erläuterungen komme ich zur folgenden

Zusammenfassung:

Nach der Choleraschutzimpfung sind im Blutserum ein Jahr hindurch Schutzstoffe vorhanden.

Die Menge der vorhandenen Schutzstoffe hängt von der Zahl der Impfungen, von der Menge des eingespritzten Impfstoffes und von der Lebensweise des Schutzgeimpften ab.

Zur Erhaltung der Immunität genügt eine jährliche Wiederimpfung mit 0,5 ccm Impfstoff.

Die Schutzimpfung ist ein gefahrloses Verfahren, selbst bei kleinen Kindern.

Gleichzeitig kann dieselbe Person in Zwischenräumen von 3 bis 4 Tagen mit verschiedenen Impfstoffen (Cholera-, Typhus- etc. Impfstoff) geimpft werden.

Die behördlichen und persönlichen Schutzmaßregeln muß auch der Geimpfte einhalten, denn auch der Schutzgeimpfte kann an Cholera erkranken.

Der Impfstoff kann bei sorgfältiger Behandlung 1 Jahr lang benützt werden.

1)–6) Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 63.

7) Zit. bei Haffkine, Bull. Inst. Past. T.4. No. 17. 18.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die antiseptische Wirkung des Magensaftes.

[Aus dem Institute für allgemeine Pathologie der Universität Kopenhagen (Direktor Prof. Dr. C. J. Salomonsen).]

Von Dr. med. J. P. Gregersen,
Oberarzt am Bispebjerg-Hospital, Kopenhagen.

Spallanzani war der erste, der (ungefähr um die Mitte des 18. Jahrhunderts) nachwies, daß der Magensaft eine antiseptische Wirkung besitzt; er zeigte nämlich, daß Fleisch, welches einer beginnenden Fäulnis anheimgefallen war, in den Magensaft von Hunden gebracht, dort der Fäulnis entging.

Erst nachdem die Lehre von den Mikroben aufgekommen war, verstand man, daß diese antiseptische Wirkung des Magensaftes in einer vernichtenden oder hemmenden Wirkung auf die Mikroben bestehen mußte, und die Augen wurden einem darüber geöffnet, daß der Magensaft, außer wegen der Verhinderung der Gärung und Fäulnis im Magen, möglicherweise auch dadurch von Bedeutung ist, weil er die pathogenen Bakterien daran verhindert, im lebensfähigen Zustande durch den Magen in den Darm zu gelangen.

R. Koch (Berlin. klin. Wochenschr. 1884. No. 31, 32) unternahm eine Reihe von Versuchen, in welchen Tiere mit großen Mengen von Cholera-bacillen gefüttert wurden. Die nach Verlauf von wenigen Stunden vorgenommene Untersuchung des Mageninhaltes zeigte, daß keine lebensfähigen Bacillen anwesend waren, woraus Koch den Schluß zog, daß Cholera-bacillen unter normalen Verhältnissen wahrscheinlich im Magen getötet werden, und daß, falls sie tatsächlich lebend durch den Magen passieren können, eine Störung der Magenfunktion, z. B. ein Katarrh, eine starke Ueberfüllung des Magens oder ähnliches vorliegen muß, so daß der Inhalt deshalb nicht genügend verarbeitet wird. R. Koch hat also die bakterizide Wirkung des Mageninhaltes auf Cholera-bacillen nachgewiesen. Andere Verfasser wiesen dann die bakterizide Wirkung auch auf andere Bakterien nach.

Kurloff und Wagner (russisch, zitiert nach Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1889. p. 448) fanden, daß der Magensaft im Laufe einer halben Stunde Cholera-bacillen, Typhusbacillen und Pyocyaneus tötet. Tuberkelbacillen, Anthrax- und Tetanus-Sporen dagegen nicht.

Cadeac und Bournay (zit. nach Centralbl. f. Bakt. Bd. 16. 1893. p. 672) fanden, daß der Pyocyaneus nach Verlauf von 6 Stunden im Magen getötet wird, Anthrax- und Tuberkelbacillen aber nicht.

Die bakterizide Wirkung des Magensaftes war also bewiesen. Beiträge zur Frage, worauf diese Wirkung beruht, werden durch verschiedene Untersuchungen gegeben. Ich werde einige der wichtigsten nennen.

Kianowsky (russisch, zit. nach Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. 1891. p. 335) fand (beim Menschen) viele Bakterien im neutralen, nüchternen Mageninhalt. Wenn er bakterienhaltiges Essen eingab und allmählich Proben des Mageninhaltes ausheberte, zeigte es sich, daß die Bakterienmenge bei normalen Individuen während des Verlaufes der Verdauung

sukzessive an Menge abnahm, während die Menge bei Patienten mit fehlender Säuresekretion größer wurde. Kianowsky fand im Magen von Patienten mit Stagnation nur wenige Bakterien, wenn die Salzsäuresekretion erhalten war, dagegen aber massenhaft bei Patienten mit Anazidität.

Strauß und Wurtz (Arch. de méd. expér. 1889. p. 3) zeigten, daß der Magensaft die Anthraxbacillen nach 15 Minuten, die Typhusbacillen und Cholerabacillen nach 2—3 Stunden töten kann. Da nach Strauß' und Wurtz' Untersuchungen die wässerigen Salzsäurelösungen der gleichen Azidität (wie diese bestimmt wird, ist nicht erwähnt worden) auch in „wenigstens ebenso hohem Grade“ tödend wirken, schließen die Verfasser daraus, daß die bakterizide Wirkung des Magensaftes ganz und gar von der Salzsäure herrührt.

Hamburger behandelt eine neue Seite der Frage (Centralbl. f. klin. Med. 1890. p. 425). Er macht darauf aufmerksam, daß alle früheren Verfasser ihre Untersuchungen ohne Rücksicht darauf gemacht haben, daß ein Teil der Salzsäure im Magen gebunden ist. Da die gebundene Salzsäure eine geringere chemische Wirkung hat als die freie, ist zu erwarten, daß die desinfizierende Wirkung der gebundenen Salzsäure auch geringer ist als diejenige der freien Säure. Durch Vergleich zwischen der Wirkung einer reinen Salzsäurelösung mit einer solchen, zu der 1 oder 2 Proz. Pepton gesetzt war, fand Hamburger, daß die bakterizide Wirkung durch Zusetzen von Pepton geschwächt wird; die gebundene Salzsäure wirkt also weniger bakterizid als die freie HCl.

In Uebereinstimmung mit Hamburgers Resultaten fand auch Stern (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. p. 561), daß die Anwesenheit von Eiweißstoffen und Pepton die bakterizide Wirkung der Salzsäure auf die Cholerabacillen in hohem Grade herabsetzt.

Silvestrini (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 25) zeigte, daß der Magensaft, je größer die Azidität ist, desto stärker bakterizid wird.

Schultz-Schultzenstein (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 30. p. 785) fand, daß die Cholerabacillen schneller vom Magensaft als von einer reinen Salzsäurelösung derselben Azidität getötet werden, und meint deshalb, daß der Pepsingehalt der entscheidende Punkt sei.

Hanssen (Centralbl. f. Bakt. 1912) konnte (nach Fütterung von Hunden mit durch Coli infizierter Milch) nur eine geringe Abnahme der Bakterienmenge im Magen nachweisen.

Wie aus obiger Darstellung hervorgeht, haben die meisten Untersucher gefunden, daß der Magensaft, jedenfalls gegenüber einer Reihe von Bakterien (z. B. Typhus, Cholera, *Pyocyaneus*), bakterizid wirkt, während er resistente Bakterien (z. B. Tuberkelbacillen) nicht tötet. Die meisten Untersucher halten es für wahrscheinlich, daß die Anwesenheit der Salzsäure im Magen für die bakterizide Wirkung maßgebend ist.

Nur Hamburger hat die Frage über die Abhängigkeit der bakteriziden Wirkung von der freien und gebundenen Salzsäure behandelt, hat es aber nur in groben Zügen getan; er hat nämlich das Titrieren der angewandten Salzsäurelösungen unterlassen, so daß deshalb die quantitativen Verhältnisse unbekannt blieben. Ferner hat er die desinfizierende Wirkung auch nur grob untersucht; er stellte nämlich bloß fest, ob die Salzsäurelösungen nach Verlauf von $\frac{1}{2}$, 2 oder 6 Stunden desinfizierten.

Die Absicht meiner Arbeit ist nun, zu untersuchen, wie die bakterizide Fähigkeit des Mageninhaltes von der Azidität und wie sie von

den verschiedenen Titrierzahlen, durch welche die Azidität bestimmt wird, abhängig ist, und ob möglicherweise andere Faktoren (z. B. der Pepsingehalt) eine Rolle spielen.

Ferner verglich ich die desinfizierende Kraft des Mageninhaltes einer Reihe verschiedener Bakterien gegenüber, und die desinfizierende Kraft des Mageninhaltes mit der einer Reihe wohlbekannter Antiseptika.

Als Maß für die desinfizierende Kraft wird diejenige Zeit (Vernichtungszeit) angewandt, die der Mageninhalt dazu gebraucht, um eine gegebene Menge einer Bakterienart bei 37° zu töten. Die angewandte Bakterie war der *Staphylococcus pyogenes aureus*, welcher die resistenste der nicht sporenbildenden Bakterien ist. Die anderen Bakterien, deren Resistenz ich der Salzsäure gegenüber untersucht habe, waren so wenig resistent, daß die Vernichtungszeit für dieselben so kurz würde, daß sie sich nicht mit befriedigender Genauigkeit feststellen ließe.

Der untersuchte Mageninhalt war $\frac{3}{4}$ Stunde nach Ewalds Probe-frühstück (35 g Zwieback + 250 g Wasser) mit Schlange und Gummiballon herausgehebert worden. Das Herausgepumpte wurde durch einen sterilen Filter filtriert und das Filtrat mit folgenden Indikatoren titriert: Günzburg, Kongopapier, Alizarin, Phenolphthalein. Der Pepsingehalt wurde nach Metts Methode bestimmt.

Die desinfizierende Kraft des filtrierten Mageninhaltes wurde übrigens auf dieselbe Weise bestimmt, wie sie schon in der vorigen Abhandlung (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. No. 2) genau beschrieben worden ist, indem man die Zeit (Vernichtungszeit) bestimmte, in welcher dieselbe Bakterienmenge bei Aufenthalt in 4 ccm Mageninhalt bei 37° sterilisiert wurde. Die desinfizierende Kraft ist natürlich der gefundenen Vernichtungszeit umgekehrt proportional; je stärker die desinfizierende Kraft ist, desto kürzere Zeit nimmt das Töten der Bakterien in Anspruch. Um die Sache zu erleichtern, wird in den Tabellen nur die Vernichtungszeit angeführt.

Bei allen Versuchen ist der gleiche Stamm von *Staphylococcus pyogenes aureus*, von einem Abszeß reingezüchtet, angewandt worden. Durch stets genau dasselbe Verfahren bei allen Versuchen ist es mir gelungen, Granaten mit Bakterien überzogen darzustellen, die gegenüber Salzsäure ebenso resistent waren (natürlich wurde dies bei jedem einzelnen Versuch untersucht), so daß man die Resultate sämtlicher Versuche direkt vergleichen kann.

In Tabelle I ist eine Uebersicht über alle untersuchten Magen-inhalte, im ganzen 27, nach ihrer Azidität zusammengestellt. In der 1. Kolonne ist der Name des Patienten, in der 2. die klinische Diagnose angegeben. In den folgenden Spalten ist die Titrierzahl des Mageninhaltes nach Günzburg (G), Kongo (K), Alizarin (Al), Phenolphthalein (Ph), wie auch die Pepsinzahl, nach Metts Methode bestimmt, angegeben. In der letzten Rubrik ist die Vernichtungszeit, diejenige Zeit nämlich, in deren Verlaufe die Bakterien unter Einwirkung des Magensaftes getötet werden, angeführt. Je länger die Vernichtungszeit dauert, desto kleiner ist natürlich die desinfizierende Kraft, und umgekehrt.

Aus der Tabelle geht hervor, daß man in keinem der Versuche eine desinfizierende Wirkung derjenigen Magen-inhalte (No. 1—6) nachweisen konnte, deren Kongotitricszahl 0 oder darunter war. Alle diese Magen-inhalte gaben Wachstum in Bouillon, im Gegensatz zu No. 7—27, die alle steril waren. Diejenigen Magensäfte (No. 7—13), welche auf Günz-

Tabelle I.

Mageninhalt $\frac{1}{4}$ Stunde nach Ewalds Probebrühstück. Temp. 37°. *Staphylococcus pyogenes aureus*.

Name des Patienten	Diagnose	G	K	Al	Ph	Pepsin	Vernichtungszeit
1. K. K.	Cancer ventriculi	$\div 30$	$\div 14$	2	6	0	Keine Vernichtung
2. A. P.	Neurasthenia	$\div 24$	$\div 10$	4	10	0	" "
3. S. S.	Alcoholismus chron.	$\div 20$	$\div 12$	0	1	0	" "
4. A. K.	Cancer ventriculi	$\div 18$	$\div 6$	1	4	0	" "
5. A. S.	Alcoholismus chron.	$\div 16$	$\div 10$	1	5	0	" "
6. L. L.	Ulcus ventriculi	$\div 14$	0	24	28	4	" "
7. F. P.	Cancer ventriculi	$\div 3$	6	14	20	3,5	90 Minuten
8. A. P.	Arthrititis chron.	$\div 3$	10	17	22	3	90 "
9. C. S.	Anaemia	0	6	10	12	4,5	90 "
10. A. A.	Neurasthenia	0	12	24	32	4	38 "
11. J. N.	Ulcus ventriculi	0	23	35	47	5	38 "
12. H. P.	"	0	8	12	20	6	45 "
13. N. P.	Cirrhosis hepatis	0	14	34	44	5	45 "
14. B. C.	Neurasthenia	3	10	16	24	5	9 "
15. N. N.	Colitis	5	14	20	24	4,5	6 "
16. L. J.	Neurasthenia	5	18	22	30	5	6 "
17. H. L.	Ulcus ventriculi	5	14	20	24	6	8 "
18. P. C.	Colitis	6	12	16	22	4	5 "
19. J. S.	Obstipatio	8	22	29	34	6	6 "
20. N. A.	Colitis	10	22	30	38	6	5 "
21. L. A.	Ulcus ventriculi	13	34	50	60	6	3 "
22. K. N.	Colitis	20	28	30	34	4,5	1 $\frac{1}{2}$ "
23. S. N.	Ulcus ventriculi	20	40	54	60	5,5	2 "
24. L. L.	"	26	48	58	66	5,5	1 $\frac{1}{2}$ "
25. K. R.	"	32	42	50	56	6	1 "
26. P. P.	"	46	58	66	74	6	1 $\frac{1}{2}$ "
27. A. M.	"	50	64	70	78	6,5	1 $\frac{1}{2}$ "

burgs Reagens ($G < 0$) nicht sauer reagieren, aber sauer auf Kongo-papier, zeigen alle eine, wenn auch kleine desinfizierende Kraft; selbst wenn $K = 23$ (Versuch 11), desinfiziert der Magensaft erst nach 38 Minuten.

Bei denjenigen Magensäften, bei denen die G ü n z b u r g -Zahl über 0 ist, die also (nach J. Christiansen, Biochem. Zeitschr. Bd. 46. 1912) freie Salzsäure enthalten, ist die desinfizierende Kraft weit größer als bei den vorigen Mageninhalt. No. 14 zeigt, obgleich G nur 3 und $K = 10$ ist, doch eine 4mal so große desinfizierende Kraft wie No. 11, wo $G = 0$, obwohl die Kongozahl hier mehr als das Doppelte beträgt. Ferner sehen wir, wie die desinfizierende Kraft mit der steigenden G ü n z b u r g -Zahl ebenfalls steigt, und zwar ungefähr einfach proportional mit dieser.

Die desinfizierende Kraft der genannten Mageninhalt steht also in völliger Abhängigkeit zur Azidität. Wird nun dieser Zusammenhang nur durch die Azidität hervorgerufen? Die Möglichkeit wäre wohl auch vorhanden, daß derjenige Mageninhalt, der mehr Salzsäure enthält, parallel hiermit auch mehr von anderen Stoffen, die für die desinfizierende Wirkung maßgebend sind, enthält.

Diese Frage unterwarf ich einer Untersuchung, indem ich zu Portionen von 6 Mageninhalt mit verschiedenen Titrierzahlen NaOH oder HCl setzte, so daß jede Portion eine kleinere oder größere Azidität erhielt. Die desinfizierende Kraft wird nun für jeden Mageninhalt speziell untersucht, teils mit den ursprünglichen Titrierzahlen, teils mit den neuen, durch Hinzusetzen von Natron oder Salzsäure verkleinerten oder erhöhten Titrierzahlen.

Das Resultat ergibt sich aus Tabelle II.

Tabelle II.

Mageninhalt mit oder ohne Zusatz von HCl oder NaOH. *Staphylococcus pyogenes aureus*. Temp. 37°.

	G	K	Al	Ph	Pepsin	Vernichtungszeit
No. 4:						
Ohne Zusatz	÷ 18	÷ 6	1	4	0	Keine Vernichtung
Nach Zusatz von HCl	÷ 12	0	7	11		" "
" " " "	0	12	19	23		45 Minuten
" " " "	5	17	24	27		6 "
" " " "	10	22	29	32		3 "
No. 11:						
Nach Zusatz von NaOH	÷ 23	0	12	24		Keine Vernichtung
Ohne Zusatz	0	23	35	47	5	38 Minuten
Nach Zusatz von HCl	5	28	40	52		6 "
" " " "	10	33	45	57		3 "
" " " "	20	43	55	67		1 1/2 "
" " " "	40	63	75	87		1 Minute
No. 17:						
Nach Zusatz von NaOH	÷ 9	0	6	10		Keine Vernichtung
" " " "	0	9	15	19		90 Minuten
Ohne Zusatz	5	14	20	24	6	8 "
Nach Zusatz von HCl	10	19	25	29		3 "
" " " "	20	29	35	39		2 1/2 "
No. 23:						
Nach Zusatz von NaOH	÷ 20	0	14	20		Keine Vernichtung
" " " "	0	20	34	40		45 Minuten
" " " "	5	25	39	45		8 "
" " " "	10	30	44	50		3 "
Ohne Zusatz	20	40	54	60	5,5	1 1/2 "
No. 22:						
Nach Zusatz von NaOH	÷ 8	0	2	6		Keine Vernichtung
" " " "	5	13	15	19		9 Minuten
" " " "	10	18	20	24		4 "
Ohne Zusatz	20	28	30	34	4,5	1 1/2 "
No. 27:						
Nach Zusatz von NaOH	10	24	30	38	6	2 Minuten
Ohne Zusatz	50	64	70	78	6,5	1/2 Minute

Alle Magensäfte haben, gleichgültig, ob sie von Achylischen oder von Patienten mit hohen Säurezahlen stammen, ungefähr die gleiche desinfizierende Kraft, wenn sie anders durch Hinzusetzen von NaOH oder HCl dieselben Titrierzahlen bekommen haben.

Die desinfizierende Kraft ist also = 0, wenn nur so wenig Salzsäure vorhanden ist, daß sie vollständig an die stickstoffhaltigen Stoffe gebunden ist, so daß sie auf Kongo nicht sauer reagiert.

Wenn keine freie Salzsäure vorhanden ist ($G < 0$), wohl aber Salzsäure, die auf Kongo sauer reagiert (nach J. Christiansen: Salzsäure, an reaktionsfähige Aminogruppen gebunden), ist die desinfizierende Kraft, wenn auch gering, so doch nachweisbar. Dagegen bewirkt die Anwesenheit selbst kleiner Mengen freier Salzsäure eine bedeutende Steigerung der desinfizierenden Kraft, im Vergleich zu welcher die Wirkung der gebundenen Salzsäure nur unbedeutend ist.

Die desinfizierende Wirkung läuft deshalb mit der Menge der freien Salzsäure parallel, sie ist ungefähr einfach proportional den G ü n z b u r g - Zahlen. Man kann dies auch folgendermaßen ausdrücken: Das Produkt der G ü n z b u r g - Zahl und der Vernichtungszeit ist in allen Versuchen beinahe konstant.

Spielt die Anwesenheit von Pepsin oder anderen Fermenten bei der desinfizierenden Kraft eine Rolle?

Diese Frage wurde an einer Reihe von Mageninhalt untersucht, indem man die desinfizierende Kraft vor und nach 1-stündiger Erwärmung auf 100° verglich.

Die Versuche sind in Tabelle III angeführt. Die desinfizierende Kraft des Mageninhaltes wird in keinem Fall durch Erwärmen auf 100° in 1 Stunde beeinflusst; sie kann deshalb nicht von den Fermenten ab-

Tabelle III.

Mageninhalt vor und nach der Erwärmung auf 100°. Staph. pyogenes aureus. Temp. 37°.

Mageninhalt	Ver- nichtsungszeit	Ver- nichtsungszeit
No. 17	8 Minuten	9 1/2, Minuten
" 16	6 "	5 "
" 19	6 "	5 "
" 20	5 "	5 "
" 22	1 1/2, "	1 1/2, "
" 23	2 "	1 1/2, "
" 27	1 1/2, "	1 1/2, "

Tabelle IV.

Rein wässrige Salzsäurelösungen. Staph. pyogenes aureus. Temp. 37°.

Konzentration (Titrierzahl)	Vernichtungszeit
2,5	38 Minuten
5	20 "
10	10 "
20	4 "
40	2 1/2, "
80	1 "

hängig sein. Hiermit stimmen auch die Versuche in Tabelle IV und V überein, wo die desinfizierende Kraft von reinen Salzsäurelösungen mit ebenso starken Salzsäurelösungen, denen 1 Proz. Pepsin zugesetzt worden

Tabelle V.

1-proz. Lösung von Pepsin in Salzsäure. Staphylococcus pyogenes aureus. Temp. 37°.

Konzentration (Titrierzahl nach G ü n z b u r g)	Vernichtungs- zeit
5	20 Minuten
10	10 "
20	4 "

Tabelle VI.

Wässriger Auszug von Zwieback, ohne und mit Zusatz von Salzsäure. Staph. pyogenes aureus. Temp. 37°.

Konzentration (Titrierzahl nach G ü n z b u r g)	Vernichtungs- zeit
5	6 Minuten
10	2 1/2, "
20	1 1/2, "

war (von dessen kräftiger peptonisierender Wirkung ich mich selbst überzeugt habe), verglichen wird und sich als gleich groß erwies. Das Pepsin spielt infolgedessen keine Rolle bei der desinfizierenden Fähigkeit des Magensaftes.

Es ist also festgestellt, daß die desinfizierende Kraft des Mageninhaltes durch Anwesenheit von Salzsäure hervorgerufen wird, und zwar praktisch nur durch Anwesenheit von freier Salzsäure, mit deren Menge sie ja proportional ist, während sie vom Gehalt an Fermenten oder anderen Stoffen, die durch Erwärmung auf 100° in einer Stunde destruiert werden, völlig unabhängig ist.

Wie verhält sich jetzt die desinfizierende Fähigkeit des Mageninhaltes, mit reinen Salzsäurelösungen verglichen? Dies ist aus Vergleichung von Tabelle I und IV ersichtlich. Der Mageninhalt wirkt jeden-

falls 2—4mal so desinfizierend wie eine reine Salzsäurelösung mit einer Azidität, die der Günzburg-Zahl des Mageninhaltes entspricht.

Was ist die Ursache davon? Die Anwesenheit der gebundenen Salzsäure kann nicht bewirken, daß der Mageninhalt stärker desinfizierend wirkt. Es ist ja nachgewiesen, daß die gebundene Salzsäure nur eine minimale Wirkung hat.

Zur weiteren Erläuterung untersuchte ich, wie ein wässriger Auszug des im Probefrühstück eingegebenen Zwiebacks sich verhält. Ein zermalmtter Zwieback wird im Laufe einer halben Stunde mit 200 g Wasser ausgelaugt. Das Filtrat wird teils ohne Säurezusatz, teils nach Zusetzen von Salzsäure untersucht. Der Versuch ist in Tabelle VI angeführt worden.

Es zeigte sich, daß der wässrige Extrakt allein nicht desinfizierend wirkte, mit hinzugesetzter Salzsäure dagegen ungefähr 3—4mal so stark wie reine Salzsäure, mit anderen Worten, ebenso desinfizierend wie Mageninhalt mit gleicher Titrierzahl. Versuche mit Hinzufügen von 5 Proz. Zucker zur Salzsäurelösung zeigten, daß ihre desinfizierende Kraft dadurch nicht beeinflußt wurde. Das Resultat ist also, daß das gegebene Frühstück (Zwieback) Stoffe enthält, die an sich nicht desinfizierend sind, die aber der Salzsäure zugesetzt, die desinfizierende Kraft derselben erhöhen.

Wir haben aus diesen Versuchen ersehen, daß der Mageninhalt eine sehr bedeutende bakterizide Wirkung gegenüber dem *Staphylococcus pyogenes aureus* besitzt, weil ein Mageninhalt mit normaler Azidität (Günzburg 20—30) auf den angewandten Stamm von *Staphylococcus pyogenes aureus* in weniger als 3 Minuten tödend wirkte.

Wenn wir zur Frage übergehen, wie andere Bakterien sich verhalten, so habe ich zur Beurteilung derselben Untersuchungen darüber ausgeführt, wie eine Reihe verschiedener Bakterien im Vergleich mit dem *Staphylococcus pyogenes aureus* der Einwirkung von Salzsäure widerstehen. Die Resultate sind in Tabelle VII angeführt.

Tabelle VII.

$\frac{1}{100}$ normal Salzsäure (Titrierzahl 10) verschiedenen Bakterien gegenüber. Temp. 20°.

	Vernichtungszeit		Vernichtungszeit
<i>Staphyloc. pyogenes aureus</i> I	75 Minuten	Typhus I	1 $\frac{1}{4}$ Minuten
		" II	3 "
<i>Staphyloc. pyogenes aureus</i> II	50 "	Paratyphus I	$\frac{3}{4}$ "
		" II	$\frac{3}{4}$ "
<i>Staphyloc. pyogenes albus</i>	30 "	" III	$\frac{3}{16}$ "
		Prodigiosus	1 $\frac{1}{2}$ "
<i>Streptococcus</i> I	12 "	Proteus I	$\frac{3}{8}$ "
" II	5 "	" II	$\frac{3}{8}$ "
" III	1 $\frac{1}{4}$ "	" III	1 $\frac{1}{4}$ "
<i>B. coli</i>	5 $\frac{1}{2}$ "	<i>B. enteritidis</i> Gärtner I	3 "
		" " " II	1 $\frac{1}{2}$ "

In der ersten Kolonne der Tabelle ist der Name der betreffenden Bakterie, in der 2. die Vernichtungszeit angeführt. (Alle Untersuchungen sind mit derselben Lösung von Salzsäure $\frac{n}{100}$ Salzsäure — Titrierzahl = 10 = 0,036 Proz. HCl bei 20° ausgeführt worden.)

Je kürzer die Vernichtungszeit, desto weniger resistent ist die betreffende Bakterie. Durch Vergleich zwischen den Vernichtungszeiten

bekommen wir geradezu ein Maß für die Resistenz der Bakterie. Gehen wir vom *Staphylococcus pyogenes aureus* aus, so sehen wir, daß die anderen Bakterien bei weitem weniger resistent sind als diese.

Daher sollte der Mageninhalt von derjenigen Azidität (G 20—30), die normal 1 Stunde nach Ewalds Probefrühstück gefunden wird, imstande sein, den *Staphylococcus pyogenes aureus* binnen 2 Minuten, den *Staphylococcus pyogenes albus* in $\frac{2}{3}$ Minute und die anderen untersuchten Bakterien in Bruchteilen einer einzigen Minute zu töten.

Daß dies eine sehr kräftige desinfizierende Wirkung ist, geht aus einem Vergleich zwischen der desinfizierenden Wirkung des Mageninhaltes und derjenigen einer Reihe wohlbekannter, kräftiger Antiseptika gegenüber der gleichen Kultur von *Staphylococcus pyogenes aureus* hervor, welchen man zu den resistentesten der gewöhnlich vorkommenden, nicht sporenbildenden Bakterien rechnen muß.

Mageninhalt (mit Gönzburg-Zahl 20) tötet bei 37° in vitro den *Staphylococcus pyogenes aureus* in ca. 2 Minuten. Bei Zimmertemperatur (20°) wird der *Staphylococcus pyogenes aureus* unter übrigens ganz denselben Versuchsbedingungen erst nach 2 Minuten getötet von einer 15-proz. Formollösung, von $1\frac{1}{2}\%$ Sublimatlösung, von $1\frac{1}{2}$ -proz. Phenollösung, von 80-proz. Alkohol.

Wie man ersieht, hat der Mageninhalt mit einer Azidität von Gönzburg 20, die $\frac{3}{4}$ —1 Stunde nach Ewalds Probefrühstück als normal gerechnet wird, eine sehr starke antiseptische Wirkung.

Es scheint für die erwähnten Bakterien fast unmöglich zu sein, lebend durch einen normalen Magen in das Duodenum durchzuschlüpfen. Doch stellen die Verhältnisse sich in vivo nicht so günstig. Denn, wie uns die Röntgen-Untersuchung so deutlich zeigt, passiert bereits bald nach dem Essen und namentlich nach Einnahme von flüssiger Nahrung etwas von der Nahrung in das Duodenum hinaus, und zwar schon zu einem Zeitpunkte, wo sie kaum mit Magensaft zu saurer Reaktion vermischt worden ist.

Ueberhaupt dauert es ja in der Regel (wie unter anderem meine Untersuchungen [Arch. f. Verdauungskrankh. 1913] zeigten) 15 Minuten oder mehr, bis die Magensaftsekretion so weit gelangt ist, daß der Mageninhalt eine positive Kongoreaktion gibt, deshalb ist jedenfalls die Möglichkeit vorhanden, daß ein kleiner Teil der Nahrung durch den Pylorus hinausschlüpfen kann, ohne vom Magensaft desinfiziert worden zu sein.

Da normalerweise früher oder später nach jeder Mahlzeit ein Zeitpunkt kommt, in dem reichliche freie Salzsäure (G 20 oder mehr) im Mageninhalt vorhanden ist, so gibt es jedenfalls nur eine kleine Möglichkeit zur Entwicklung der mit der Nahrung eingenommenen Bakterien, indem nach jeder Mahlzeit eine beständige Reinigung mit einem starken Desinficiens eintritt. Eine Anhäufung von Bakterien kann deshalb nicht vorkommen.

Damit stimmen auch verschiedene Untersuchungen überein (u. a. Kianowsky, l. c.), wodurch bei Retention mit erhaltener Salzsäuresekretion keine, dagegen bei Retention ohne Salzsäuresekretion zahlreiche Bakterien gefunden wurden. Auch das den Chirurgen bekannte Verhältnis, daß bei Achyliechern, an denen Magenoperationen vorgenommen werden, eine größere Infektionsgefahr besteht, als bei solchen Magen, welche Salzsäure sezernieren, stimmt mit dem oben Erwähnten überein.

Es ist deshalb wahrscheinlich, daß es für Achylicher, besonders in der Länge der Zeit, von Bedeutung sein muß, daß diejenigen Bakterien, die beständig in den Magen gelangen, teils alle lebensfähig passieren können, teils auch, bevor der Mageninhalt ganz in den Darm entleert wird, eine Möglichkeit zur starken Entwicklung haben. Die „gastrogene“ Diarrhøe bei Achylichen mag wohl mit diesem Verhältnis zusammenhängen.

Auch Beobachtungen (Kn. Faber) über das vorzugsweise Auftreten von Anämien bei Achylichen können wohl teilweise eine Folge davon sein, daß die normale Magenfunktion an diesem Punkt versagt.

Nach meiner Meinung berechtigen diese Versuche zu dem praktischen Hinweise, eine Magenausspülung mit Salzsäurelösung zu benutzen, z. B. bei Achylichen, die an Stagnation leiden, oder in Fällen, wo man vor der Magenoperation Ausspülung vornimmt. Eine Lösung von 1‰ HCl (Titrierzahl ca. 30) wird ja eine Salzsäurekonzentration sein, mit welcher die Magenschleimhaut normalerweise gewohnt ist, in Berührung zu kommen, die also nicht schädlich wirkt, und die in großen Mengen, ohne Anzeichen von Vergiftung, im Magen zurückgelassen werden kann.

Bei meinen Versuchen hat eine solche Lösung bei einer Temperatur von 37° im Laufe von 5 Minuten auf den *Staphylococcus pyogenes aureus* (der weitaus am widerstandsfähigsten Bakterie, von welcher die Rede sein kann) eine tödliche Wirkung ausgeübt, d. h. mit derselben Schnelligkeit, wie $\frac{1}{2}$ ‰ Sublimat, 1¼-proz. Phenol, 5-proz. Formaldehyd oder 90-proz. Alkohol die gleiche Bakterie bei Zimmertemperatur tötet.

Zusammenfassung.

Die bakterizide Wirkung des Magensaftes wird ganz und gar vom Vorhandensein der Salzsäure bedingt. Wenn die Azidität des Mageninhaltes eine solche ist, daß sie auf Kongopapier nicht sauer reagiert, kann eine desinfizierende Wirkung nicht nachgewiesen werden.

Mageninhalt, der auf Kongo sauer reagiert, jedoch keine freie Salzsäure enthält (d. h. der auf Günzburgs Reagens nicht sauer reagiert), hat nur eine sehr geringe desinfizierende Kraft.

Wenn freie Salzsäure vorhanden ist, wirkt der Mageninhalt stark desinfizierend, und die desinfizierende Kraft ist beinahe einfach proportional denjenigen Säurezahlen, welche die Menge der freien Salzsäure angeben.

Der Mageninhalt nach Ewalds Probefrühstück wirkt 3—4mal so stark desinfizierend wie eine wässrige Salzsäurelösung von einer Konzentration, die dem Gehalte des Mageninhaltes an freier Salzsäure entspricht. Dieses rührt von Stoffen her, die im wässerigen Extrakt des Zwiebacks gefunden werden.

Von den mit dem Magensaft sezernierten Stoffen ist die Salzsäure die einzige, welche für die desinfizierende Fähigkeit von Bedeutung ist, während die Anwesenheit von Pepsin bedeutungslos ist.

Nachdruck verboten.

Ueber die Herstellung des Blutnährbodens.

[Aus dem Physiologischen Institut der Universität Berlin
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner).]

Von Dr. Stefanie Lichtenstein.

Vor einiger Zeit hat Szász¹⁾ einen Nährboden aus Blutkuchen angegeben, der neben dem Vorteil der großen Billigkeit die Eigenschaften eines vortrefflichen Nährmediums besitzt, auf dem auch die anspruchsvollen Bakterien sehr gut gedeihen. Auch Schmitz²⁾ empfiehlt den Serumagar als einen sehr guten Nährboden, auf dem schlecht wachsende Typhusbacillen zum üppigsten Wachstum zu bringen sind. Der große Preisunterschied bei der Herstellung des Nährbodens aus Blutkuchen, anstatt aus dem üblichen Rind- oder Pferdefleisch, veranlaßte mich, auch Blut als Nährsubstrat zu verwenden.

Während Schmitz das Serum vom Blutkuchen trennt, den Blutkuchen mit der doppelten Menge destillierten Wassers 10 Minuten lang kocht und das Serum erst dann zusetzt, nachdem in der abfiltrierten Flüssigkeit die nötigen Mengen Kochsalz, Pepton und Agar sich gelöst haben, verwendet Szász das koagulierte Blut und das Serum zugleich. Der durch kurzes Kochen hart gewordene Blutkuchen wird in nußgroße Stücke zerkleinert und in derselben Flüssigkeit weitergekocht. Abgesehen von einer gewissen Umständlichkeit, aus der heißen Flüssigkeit den Blutkuchen herauszufischen und zu zerschneiden, geht unbedingt ein Teil der in den kleinen Stücken noch enthaltenen Extraktivstoffe für die Nährflüssigkeit verloren. Schmitz empfiehlt desgleichen, den Blutkuchen beim Kochen nicht zu sehr zu zerquetschen, weil die Bouillon sich dann schlecht abfiltrieren läßt.

Ich lasse den Blutnährboden auf folgende einfache Weise herstellen: Das von dem Viehhofe bezogene Blut wird abgewogen. Der Blutkuchen wird in einer Fleischhackmaschine zu einem Brei zermahlen. Das Ganze wird mit der doppelten Menge destillierten Wassers versetzt, und in einem Emailletopf über einer offenen Flamme gekocht. Damit der Brei sich nicht am Boden ansetzt, muß das Gemisch fortwährend umgerührt werden, wofür sich am besten eine langstielige, schmale Bürste bewährt. Nachdem das Ganze 10 Minuten lang gekocht hat, setzt man konzentrierte Essigsäure (zwecks besserer Koagulierung) hinzu, läßt weitere 5 Minuten kochen, nimmt den Topf vom Feuer weg und stellt ihn schräg, damit die Gerinnselteilchen sich einigermaßen absetzen. Die Flüssigkeit muß dann kalt koliert werden; sie wird dann in einem Glaskolben mit den nötigen Mengen Pepton, Kochsalz und Agar versetzt. Nachdem der Agar sich gelöst hat, wird das Ganze neutralisiert, auf weitere 20 Minuten in den Dampftopf gestellt und dann, wie üblich, filtriert.

Der Nährboden kann, wie Szász schon hervorgehoben hat, auch für die auf gewöhnlichem Nähragar schwer züchtbaren Bakterienarten mit

1) Szász, A., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915. H. 5/6. Neuerdings kommt Szász, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1915. H. 1 auf diesen Gegenstand wieder zurück.

2) Schmitz, K. E. F., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. H. 4.

dem besten Erfolge verwendet werden. So z. B. entwickeln sich Diphtheriebacillen und Streptokokken vorzüglich auf dem Blutnährboden, der im Laboratorium den Glyzerinagar vollständig ersetzen kann.

Eine saprophytische Bakterienart, die ich auf gewöhnlichem Nähragar so gut wie gar nicht zu einem sichtbaren Wachstum bringen konnte und die sich auf Zuckeragar leidlich entwickelt, gedeiht auf dem Blutagar sehr gut.

Nachträglich versuchte ich, den gleichen Nährboden ohne Peptonzusatz herzustellen. Der Erfolg war durchaus günstig. Streptokokken und Diphtheriebacillen wachsen auf dem peptonlosen Blutagar sehr gut, wenn auch spärlicher, als auf dem peptonhaltigen Nährboden. Durch das Weglassen des Peptons lassen sich die Herstellungskosten des Blutnährbodens noch mehr reduzieren.

Nachdruck verboten.

Hefenwasserpeptonagar als Ersatz für Fleischwasserpeptonagar.

[Aus der Kgl. Bayr. Militärärztlichen Akademie München.]

Von Dr. ing. **Rudolf Guggenheimer.**

Der Anlaß zu Versuchen, Fleischwasserpeptonagar durch einen anderen Nährboden zu ersetzen, war vor allem der hohe Fleischpreis. B. Fischer, L. Bitter und G. Wagner haben zuerst darauf hingewiesen, Fleisch durch Hefe zu ersetzen¹⁾.

An der Kgl. Bayr. Militärärztlichen Akademie wurde aus obigem Grunde seit Ende Mai das teure Fleischwasser durch das billigere Hefenwasser nach der Vorschrift von Will ersetzt²⁾. Für 10 l Hefenwasser nimmt man 2,5 kg gut gewaschene, vom Wasser durch Ablaufenlassen und besonders von Hopfenharzen befreite, untergärige Bierhefe, hierzu 4 l Leitungswasser, bringt das Gemisch unter häufigem Umrühren zu einmaligem kurzen Aufkochen und gibt hernach 5 l kaltes Leitungswasser zu. Auf diese Weise setzt sich die Hefe leicht ab, und die überstehende Flüssigkeit, das Hefenwasser, wird nach 3-stündigem Stehenlassen abgehebert und filtriert. Das klare Hefenwasser wird nun, in derselben Weise wie Fleischwasser, durch Zusatz von 1 Proz. Pepton und 0,5 Proz. Chlornatrium zu Hefenwasserpeptonagar weiter verarbeitet.

Für die Impfstoffbereitung wird am Institut nur noch Hefenwasserpeptonagar verwendet, und die Erfahrung hat gezeigt, daß selbst auf dünnen Agarschichten Cholera- und Typhusbacillen gleichmäßiger und besser wachsen als auf dickeren Agarschichten mit Liebig's Fleischextrakt.

Auch für die Bereitung der Spezialnährböden eignet sich Hefenwasserpeptonagar, besonders gut zur Bereitung der Blutnährböden nach Dieudonné und Baerthlein u. Gildemeister³⁾.

1) Fischer, B., Bitter, L., u. Wagner, G., Vereinfachung und Verbilligung der Herstellung von Choleraimpfstoff. (München. med. Wochenschr. 1915. p. 772.)

2) Will, H., Anleitung zur biologischen Untersuchung und Begutachtung vom Bierhefe, Bier und Brauwasser zur Betriebskontrolle, sowie zur Hefenreinzucht. München 1909. p. 445.

3) Baerthlein, K., u. Gildemeister, E., Ueber Choleraelektivnährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. p. 550.)

Nachdruck verboten.

Ein flammenloser, versendbarer Brutschrank.

[Aus dem Hygien. Institut der Universität Königsberg i. Pr.; Direktor:
Prof. Dr. Kiskalt.]

Von Dr. Alexander Friedmann, Assistent am Institut.

Mit 1 Abbildung im Text.

Die Idee eines flammenlosen Brutschrankes ist nicht neu. Schon im Jahre 1892 wurde ein solcher von v. Esmarch (1) improvisiert. Nach v. Esmarch läßt sich, wenn es auf Temperaturschwankungen von einigen Graden nicht ankommt, ein regelrechter Brutapparat in sehr einfacher Weise improvisieren. Erwärmt man zu diesem Zwecke etwa 2 kg kristallisiertes, essigsaures Natron, mit wenig Wasser aufgelöst, auf dem Herde in einem Kochtopf bis zu 60° C, setzt den letzteren sodann auf eine, die Wärme schlecht leitende Unterlage, ein Holzbrett mit einer Watteschicht darüber z. B., stülpt auf den Kochtopf einen Dampfzylinder, umgibt das Ganze mit einem dicken, wollenen Tuche, einer Pferdedecke oder dgl., und isoliert dann endlich auch noch den Deckel des Topfes mit einer daraufgelegten Watteschicht, so hat man einen Brutschrank, der sich bald im Inneren bis auf 36—37° erwärmen wird. Das essigsaure Salz gibt seine Wärme sehr langsam wieder ab, und nach 24 Stunden wird man in dem Zylinder noch eine Temperatur von 27° finden, so daß erst nach dieser Zeit eine Wiedererwärmung der Salzlösung stattzufinden hat. Der einzige Punkt, auf den man zu achten hat, ist, daß die Lösung nicht zu warm wird, weil dann naturgemäß auch sogleich die Temperatur im Apparat nachher so werden kann, daß die eingesetzten Bakterien dabei zugrunde gehen. Hält man aber hier die nötige Grenze ein, so bekommt man eine täglich sich wiederholende, regelmäßige Temperaturkurve, deren höchsten Punkt man sehr einfach durch ein mit den Kulturen eingebrachtes Maximalfieberthermometer kontrollieren kann.

Es ist v. Esmarch ohne weiteres gelungen, Tuberkelbacillen z. B. in einem solchen improvisierten Apparat zu reichlichem Wachstum zu bringen.

Diese Idee ist von Walz (2) aufgenommen worden, der „einen einfachen Brütöfen für den praktischen Arzt“ konstruierte, indem er in eine Isolierhülse einen Thermophorzyylinder, der doppelwandig ist, und mit Natriumazetat nach dem Prinzip der Thermophorapparate gefüllt ist, zur Aufnahme der Kulturen benutzte. Die Erwärmung geschieht durch Einstellung des Thermophorzyinders in siedendes Wasser. Die Temperatur im Innern des Zylinders steigt, je nach der Dauer der Erhitzung, verschieden hoch und hält verschieden an. Bei 2 Minuten dauerndem Eintauchen steigt die Temperatur binnen einer halben Stunde langsam durchschnittlich auf 44° C, in 1¾ Minute auf 39°, in 1½ Minute auf 35° C. Dieses Maximum erhielt sich 1½ Stunde, worauf die Temperatur ganz langsam sank, sich 4—5 Stunden über 30° haltend, um nach 7—10 Stunden die Zimmertemperatur zu erreichen. Versuche, die ich in dieser Richtung unternommen habe, zeigten mir aber, daß das Natriumazetat die Wandungen von Eisenblech sehr schnell angreift, und daß ein solcher Apparat nicht von langer Dauer sein kann.

Das Prinzip der Thermosflasche zu bakteriologischen und serologischen Arbeiten wendet Paul Sommerfeld (3) an. Die Wirkung der Thermosgefäße beruht darauf, daß die doppelten Wandungen eines Glasgefäßes luftleer gepumpt sind, und das Gefäß durch geeignete Vorrichtungen nach außen isoliert wird, so daß infolge der aufgehobenen oder sehr stark verringerten Wärmeleitung Substanzen, welche in das Gefäß gebracht werden, für längere Zeit ihre Temperatur innerhalb sehr enger Grenzen behalten. So betrug z. B. die Temperatur von Wasser, das mit 80° in ein Thermosgefäß gebracht wurde, nach 50 Minuten 74° C, nach 1 Stunde 69°.

Sommerfeld benutzt die Thermosgefäße mit Erfolg unter anderem zu folgenden Zwecken:

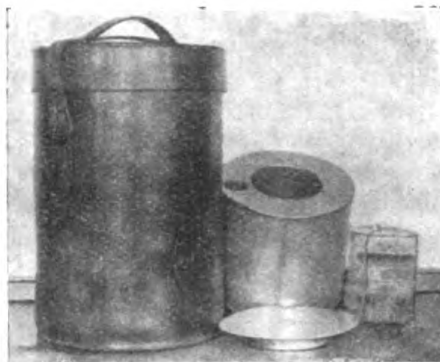
- 1) Zur Inaktivierung von Serum, besonders zur Wassermannschen Reaktion. Die Inaktivierung war — wie die Versuche zeigten — geschehen.
- 2) Zur Komplementbindung. Die betreffenden Röhrchen wurden in dem mit Wasser von 40° beschickten Thermosgefäß 1 Stunde gehalten, Temperatur des Wassers nach dieser Zeit 37°.
- 3) Zur Hämolyse,
- 4) zur Aufbewahrung von Serum,
- 5) zur Züchtung von Kulturen, wie Diphtherie auf Löffler-Serum, Typhus, Paratyphus, Coli und Kokken bei 40°.

Auch bei unserem neuen, flammenlosen Brutschrank ist das Prinzip der Kochkiste angewandt worden, und zwar mit gutem Erfolg. Ausgehend von den Erfahrungen, die man im hiesigen Untersuchungsamte für ansteckende Krankheiten bei 230 Untersuchungen von Nasen- und Rachenabstrichen und Liquor cerebrospinalis sowie bei 39 eingesandten Blutgarkulturen, wonach nur 1 von den letzteren und 12 von den Abstrichen (Rachen) und nur 8 vom Liquor positiv ausfielen, machte, suchten wir nach der Ursache dieses Ausfalles und konnten sie nur so erklären, daß das Material auf dem Transport zu stark abgekühlt wäre und daher die Bakterien zugrunde gehen. Denn die am Krankenbett selbst angelegten Kulturen gaben ein ganz anderes Resultat. So stellte sich die Notwendigkeit eines Apparates heraus, der es ermöglichen sollte, Kulturen bei einer Temperatur von 40—30° zu transportieren.

Von den anderen Forderungen, die an einen solchen Apparat gestellt wurden, war die wichtigste die Zeitdauer — 24 Stunden.

Bei dem Prinzip der Kochkiste haben wir 2 Größen, mit denen wir in bezug auf Temperatur operieren können: die Größe des Hohlgefäßes, welches das heiße Wasser aufnimmt, und die Dicke und Stärke des Isolierungsmaterials. Je größer das Gefäß ist, desto langsamer findet die Abkühlung im Innenhohlraum statt, desto stärker aber muß auch die isolierende Schicht werden. Nach diesen Grundsätzen wurde nun folgender Apparat gebaut:

Zur Aufnahme der Kulturen dient die Aushöhlung eines doppelwandigen Blechtopfes, der 3500 ccm Wasser faßt. Der Innenraum hat einen Durchmesser von 10 ccm und eine Höhe von 15½ ccm. Mittels



passender Gestelle werden Petri-Schalen oder Röhrchen in den Brutschrank gestellt. Der Innenraum wird von einem gutsitzenden Metalldeckel gut abgeschlossen. Der äußere Umfang des Topfes hat einen Durchmesser von 20 cm, eine Höhe von 18 cm, der Abstand der Doppelwände beträgt 5 cm. Die Wasseraufnahme geschieht durch eine Oeffnung, die sich am oberen Rande des Topfes befindet. Diese ist ein wenig vertieft und mit einem mit einem Gewinde versehenen Deckel verschlossen. Dieser Topf sitzt in einem Lederfutteral von 40 cm Höhe und 30 cm Durchmesser. Als Isolierungsschicht zwischen Futteral und Topf dient eine 5 cm dicke Filzschicht. Die Isolierungsschicht (Filz) des Bodens ist 10 cm dick, ebenso die des Deckels.

Erst dank dieser Isolierung ist es gelungen, die Temperatur so lange zu erhalten, so daß, wenn man den Topf mit Wasser von 44° füllt und $\frac{1}{2}$ Stunde offen stehen läßt, der Innenraum nach dieser Zeit eine Temperatur von 40° hat. Wird der Apparat jetzt geschlossen, so fällt die Temperatur binnen 24 Stunden bis auf 31°, 30°, 29° C.

Ver- such	Datum	Dauer der Ein- wirkung Stunden	Innen- temperatur Grad C	Temperatur des Wassers Grad C	Temperatur des Zimmers Grad C
1.	4. 6. 14	1	40	41	22
2.	5. 6. 14	2	40	42	20
3.	8. 7. 14	2	40	40	20
4.	11. 7. 14	3	40	43	18
5.	6. 5. 15	3	40	40	18
6.	18. 5. 15	4	39,6	40	19
7.	19. 5. 15	4	39	40	19
8.	20. 5. 15	4	39	42,5	20
9.	26. 5. 15	5	38,5	39,5	19
10.	28. 5. 15	8	37	38,5	22
11.	4. 6. 15	8	37	38,5	19
12.	6. 6. 15	10	36	36	18
13.	9. 6. 15	10	36,5	36,5	20
14.	18. 6. 15	12	35	35	20
15.	3. 7. 15	12	35	35	22
16.	4. 7. 15	18	34	34	22
17.	5. 7. 15	18	34	34,5	18
18.	8. 7. 15	20	32	32	19
19.	8. 8. 15	24	30	30	20
20.	10. 8. 15	24	30	30	19
21.	15. 6. 15	24	29,5	29,5	**
22.	16. 6. 15	24	28,5	28,5	**

**) Diese Versuche wurden in der Kühllhalle des städtischen Schlachthofes bei einer Temperatur von + 1° C ausgeführt.

Vergleichen wir diese gewonnenen Resultate mit den in der Literatur bei anderen Konstruktionen gemachten Erfahrungen, so fällt der Vorzug der Filzisolierung ganz besonders auf. So fanden (s. die Tabelle auf p. 367):

Die Erfolge der Züchtung der Kulturen im flammenlosen Brutschrank waren immer zufriedenstellend. Eingestellte Kulturen von Typhus, Coli, Diphtherie auf Loeffler-Serum, ebenso Pneumokokken, Meningokokken zeigten dasselbe Bild, wie die Kulturen, die gleichzeitig in mit einem Thermoregulator versehenen Brutschrank von 37° C gestellt waren.

So wird der flammenlose Brutschrank dort seinen Platz finden, wo der Anlage eines Brutschranks mit Gas oder Elektrizität technische und materielle Schwierigkeiten sich bieten, er wird dem praktischen Arzt auf dem Lande eine gute Aushilfe sein, ganz besonders aber soll

Autor	Anfangs- temperatur (Grad C)	Dauer nach	Schluß- temperatur Grad C
Walz	35	1½ Std.	35
"	35	4—5 "	30
"	35	7—10 "	25
Sommerfeld	40	1 "	37
"	80	¾ "	74
"	74	1 "	69
Friedmann	40	3 "	40
"	40	8 "	37
"	40	24 "	30

die Aufmerksamkeit der Herren Kreisärzte auf diesen Apparat gelenkt werden.

Der Apparat ermöglicht bei Genickstarre, Liquor und Rachenabstrichen im körperwarmen Zustande die Versendung, so daß das Material am Krankenbett auf die Ascites-Agarplatten ausgestrichen werden kann und dann nicht abkühlt, sondern schon mit beginnendem oder gar vollständigem Wachstum im Laboratorium ankommt¹⁾.

In dem Buche „Einfache Hilfsmittel zur Ausführung bakteriologischer Untersuchungen“ von Abel und Ficker ist, wie uns beim Lesen der Korrektur mitgeteilt wird, die Kochkiste als Brutschrank im Laboratorium empfohlen.

Literatur.

- 1) v. Esmarch, Improvisieren bei bakteriologischen Arbeiten. (Hyg. Rundsch. Jahrg. 2. 1892. p. 661.)
- 2) Walz, Ein einfacher Brütoven für den praktischen Arzt. (München. med. Wochenschrift. 1900. p. 933.)
- 3) Sommerfeld, Verwendung von Thermosgefäßen zu bakteriologischen und serologischen Arbeiten. (München. med. Wochenschr. 1910. p. 1073.)
- 4) Schütz, Jahresbericht 1914/15 des Untersuchungsamtes für ansteckende Krankheiten im Regierungsbezirk Königsberg i. Pr. (Hyg. Rundsch. 1915. No. 15.)

Nachdruck verboten.

Erwiderung auf die Bemerkungen Prof. Dr. G. Pommers zu meiner Arbeit: „Ueber malignes Oedem“.

Von Prof. Eugen Fraenkel, Hamburg.

In Heft 3. Bd. 77 dieses Centralblatts beschäftigt sich Pommer sehr eingehend mit meiner vor einiger Zeit erschienenen Arbeit: „Ueber malignes Oedem“. An die Spitze seiner Ausführungen stellt er die den mit meiner Arbeit nicht vertrauten Leser gänzlich irreführende Behauptung, daß es mir wesentlich darauf angekommen wäre, „die Annahme einer Immunität des Menschen gegen das maligne Oedem“ zu widerlegen, und sucht weiterhin den Anschein zu erwecken, als ob meine Arbeit eine polemische, gegen seinen verstorbenen Schwager, v. Hibler, gerichtete gewesen wäre. Beides ist absolut falsch. Es lag mir, um

1) Der Apparat ist von der Firma Paul Altmann, Berlin NW, Luisenstraße 47, zu beziehen und ist die Ausführung gesetzlich geschützt. Infolge der teuren Lederpreise hat der Apparat eine Eisenblechfassung erhalten.

Herrn Prof. P o m m e r darüber aufzuklären, ausschließlich daran, einen Beitrag zu der meines Erachtens bisher durchaus strittigen Aetiologie des malignen Oedems, soweit der Mensch dabei in Betracht kommt, zu liefern. Inwieweit es mir gelungen ist, hier klärend mitzuwirken, das zu entscheiden, kann ich P o m m e r nicht als berufenen Richter anerkennen, da er sich, wie auch aus seinen „Bemerkungen“ hervorgehen dürfte, nie selbst mit Untersuchungen über anaerobe Bakterien beschäftigt hat, sondern lediglich Ansichten des auch von mir als Anaerobenforscher geschätzten v. Hibler reproduziert. Ganz besonders hat er es mir verargt, daß ich dem durch v. Hibler in die Anaerobenforschung eingeführten Hirnbreïnährboden nicht die Bedeutung zuerkannt habe, die er nach v. Hibler und deshalb natürlich auch nach P o m m e r verdient. Ich halte trotzdem, und teile diese Auffassung mit verschiedenen Forschern auf diesem Gebiete, daran fest, daß dieser v. Hiblersche Hirnbreïnährboden keineswegs geeignet ist, pathogene anaerobe Bakterien differentiell-diagnostisch auseinanderzuhalten.

Ein großer Teil der Pommerschen Auseinandersetzungen erörtert die Frage, ob der von mir gefundene Bacillus identisch mit dem Ghon-Sachsschen und von dem echten Kochschen Oedembacillus zu trennen ist. Ich müßte einen großen Teil dessen, was ich in meiner Arbeit hierüber vorgebracht habe, wiederholen, wenn ich P o m m e r in dieser Beziehung widerlegen wollte. Ich beschränke mich auf die kurze Bemerkung, daß, wie ich bereits dort anführte, v. Hibler überhaupt keinen, einen Menschen betreffenden, Fall von malignem Oedem untersucht und ferner ebenso wenig wie irgend ein anderer Forscher auf diesem Gebiet, den Beweis dafür erbracht hat, daß er tatsächlich den ursprünglichen Kochschen Oedembacillenstamm in Händen hatte.

Ein weiteres Eingehen auf die Pommerschen durch keinerlei eigene Untersuchungen gestützten Angriffe gegen meine Ausführungen halte ich für zwecklos.

Inhalt.

Fraenkel, Fugen, Erwiderung auf die Bemerkungen Prof. Dr. G. Pommers zu meiner Arbeit: „Ueber malignes Oedem“, p. 367.

Friedmann, Alexander, Beiträge zur Bekämpfung der Kleiderläuse in Kleidern, p. 320. Mit einem Anhang von **Kisskalt, K.**, Zur mikroskopischen Anatomie von *Ped. vestimentorum*, p. 338.

Friedmann, Alexander, Ein flammenloser, versendbarer Brutschrank, p. 364.

Gregersen, J. P., Untersuchungen über die antiseptische Wirkung des Magensaftes, p. 353.

Gruber, Georg B., Ueber die durch Infektion mit Bakterien der Thyphusgruppe in der Leber bedingten Knötchen-

förmigen Nekroseherde (sogenannten „miliaren Lymphome“), p. 301.

Guggenheimer, Rudolf, Hefenwasser-peptonagar als Ersatz für Fleischwasser-peptonagar, p. 363.

Konrádi, Daniel, Ueber den Wert der Cholerashutzimpfungen, p. 339.

Lehmann, Ernst, Bakterienmutationen. Alloponie. Klonumbildungen, p. 289.

Lichtenstein, Stefanie, Ueber die Herstellung des Blutnährbodens, p. 362.

Thöni, I. und Thaysen, A. C., Experimentelle Untersuchungen zur Feststellung der Mindestzahl von Bacillen, die beim Meerschweinchen noch Tuberkulose hervorruft, p. 208.

Die Verwandlungsfähigkeit der Bakterien.

Experimentelles und Kritisches mit besonderer Berücksichtigung der Diphtheriebacillengruppe.

[Aus dem Hygienischen Institut in Greifswald. (Direktor: Prof. Dr.
P. H. Römer).]

Von **K. E. F. Schmitz.**

Mit 3 Tafeln.

Einleitung.

Wie schon früher in anderen Gebieten der Naturwissenschaften, hat auch in der Bakteriologie die Frage nach der Unveränderlichkeit der Arten eine große Rolle gespielt. Besonders in der Jugendzeit dieser Wissenschaft haben mancherlei Versuche viele Forscher zu der Ansicht gebracht, daß das Formenreich unter diesen Lebewesen niederster Art nicht so festgelegt sei wie bei den höheren, und daß ein und dasselbe Wesen einmal in dieser und dann in jener Gestalt auftreten, daß es auch ganz verschiedene Lebensäußerungen je nach Nährboden und Gelegenheit darbieten könne.

Ich brauche hier nur an die *Coccobacteria septica* Billroths und an die Umzüchtungen Halliers von Mikrokokken in alle möglichen Schimmelarten und an seine darauf fußenden Lehren zu erinnern.

Dieses ganze Gebäude stürzte jedoch in dem Augenblick, als durch Koch die Gewinnung von Reinzuchten der Bakterien gelehrt wurde. Man konnte mit dem neuen Verfahren nachweisen, daß das Festhalten der Form auch bei den Bakterien in weitgehendem Maße vorhanden war.

In der Bestätigung und kraftvollen Hervorhebung dieses Grundsatzes liegt eines der Hauptverdienste der Lebensarbeit Kochs, ohne diesen Grundsatz wäre eine Klarstellung der Aetiologie bei den verschiedenen Infektionskrankheiten unmöglich gewesen. Diese Erkenntnis war die Vorbedingung der großen Erfolge, der Entdeckung des Tuberkelbacillus, des Choleravibrios usw.

Durch die Forschungen Kochs und seiner Schule waren die einzelnen Bakterien, insbesondere die Infektionserreger, als unveränderliche Arten festgelegt worden, aber doch ergaben sich bald Zweifel an ihrer völligen Unveränderlichkeit. Die genauere Forschung führte zu der Erkenntnis, daß einzelne Abweichungen von den bisher als unumstößlich festgelegten Merkmalen vorkommen. Ich sehe hier ab von den Versuchen, die mit unreinen Kulturen unternommen wurden und die Umwandlung z. B. des Milzbrandbacillus in Heubacillen zeigen sollten; sie gehören zwar nicht der Zeit, aber nach der Art der angewandten Untersuchungsverfahren in den Zeitabschnitt vor R. Koch. Die erste sichere Kunde über kleine Abweichungen von den Artmerkmalen sind wohl die Beobachtungen Grubers und Firtschs aus dem Jahre 1888.

Aber offenbar waren Zeit und Untersuchungsverfahren für diese schwierige Forschung noch nicht bereit. Es blieb auf diesem Gebiete im allgemeinen still, bis fast zwei Jahrzehnte später Neisser und Massini mit der Beschreibung des *Bacterium coli mutabile* den Anstoß zu ganz neuer Bearbeitung und zu neuer Fragestellung gaben. In der Zwischenzeit hatte sich in den verwandten Gebieten der Zoologie und der höheren Botanik eine neue Wissenschaft gebildet, die experimentelle Vererbungslehre. Deren Grundsätze, Fragestellungen und Untersuchungsverfahren wurden allsogleich mutatis mutandis für die Variabilitätsforschung der Bakterien übernommen und wirkten außerordentlich befruchtend, was sich am deutlichsten in der großen Zahl von Arbeiten zeigt, die in dem letzten Jahrzehnt über diesen Vorwurf geschrieben sind.

Aber nicht allein die rein wissenschaftliche Frage der Entstehung und Umbildung der einzelnen Arten war es, was hier vorwärts drängte. In gleicher Richtung trieb auch ein Anstoß, der in letzter Hinsicht in einem Nützlichkeitsbedürfnis bestand. In gewissen Gruppen der Bakterien ist nämlich der Unterschied der krankmachenden und nicht krankmachenden so gering und wird durch ohne unser Zutun auftretende Varietäten und Uebergänge aller Art so verwischt, daß die Erkennung der betreffenden übertragbaren Krankheiten mit Hilfe der bakteriologischen Untersuchung dadurch ungeheuer erschwert wird. Das zwingende Bedürfnis, hier die Verhältnisse möglichst klar zu überschauen, war eine mächtige Triebfeder zum Studium der Veränderlichkeitserscheinungen bei Bakterien.

In der Hauptsache sind es zwei Bakteriengruppen, die hier die Untersucher beschäftigen. Erstens die Typhus-Coli-Gruppe. Sie wurde von zahlreichen Forschern sehr genauen Untersuchungen unterworfen.

Während aber bei dieser Gruppe die Verwandtschaft der einzelnen Glieder nie bezweifelt wurde, war diese Frage bei der zweiten, der Diphtherie-Pseudodiphtheriegruppe, schon Gegenstand heftigsten Streites. Er war entfacht worden durch Roux und Yersin, die in mehreren Arbeiten in den Jahren 1888—1890 die Lehre aufstellten, daß die Pseudodiphtheriebacillen weiter nichts seien als Abkömmlinge der echten Diphtheriebacillen, und daß auch der umgekehrte Weg der Verwandlung von Pseudodiphtheriebacillen in echte Diphtheriebacillen durchaus möglich sei.

In der Folgezeit standen sich dann die Anhänger der beiden Lehren, die Dualisten und die Unisten, gegenüber, ohne daß eine Entscheidung möglich schien.

Die früheren, auf Versuche gestützten Arbeiten über den genannten Streitpunkt waren besonders in einer Beziehung anfechtbar. Die Entscheidung der Forscher, ob Diphtherie- oder Pseudodiphtheriebacillen vorlagen, wurde häufig nur nach morphologischen Gesichtspunkten getroffen. Manchmal wurde auch noch die Giftigkeit bestimmt, aber ausschlaggebend war auch der Ausfall eines solchen Versuches nicht, denn, wie man bald erkannte, gab es echte Diphtheriestämme, die trotzdem nicht krankmachend für Tiere waren. Diese Unsicherheit in der Entscheidung, ob ein Bacillus zu der einen oder anderen Gruppe gehöre, ist der Grund dafür, daß die Forscher so außerordentlich verschiedene

Befunde erhoben. Eine bessere Unterscheidung war erst möglich, nachdem man in der Züchtung in verschiedenen Nährböden ein geeignetes Mittel zur Unterscheidung kennen gelernt hatte.

Zu einer Arbeit, die in der Zeitschr. f. Hyg. Bd. 75 im Jahre 1913 erschien (auf deren Schrifttum zum Streite über die Pseudodiphtheriebacillen ich hiermit überdies verweise), benutzte ich die inzwischen gesammelten Kenntnisse über die in künstlichen Nährböden bekundeten Eigenschaften der Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen, um mittels planmäßig angelegter Untersuchungen der Lösung der Frage näher zu kommen¹⁾.

Ich untersuchte eine Reihe von Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen auf allen zu Gebote stehenden Nährböden, um festzustellen, ob nicht zwischen den „echten virulenten Diphtheriebacillen“ und den Diphtheroiden Uebergangsformen zu finden wären. Insbesondere fahndete ich nach einer Zwischengruppe atypische, aber „virulente“, die nach Meinung eines der Führer der Dualisten, Neisser, nicht vorkommen sollen. In der Tat gelang es mir, unter den 44 untersuchten Stämmen einen herauszufinden, auf den diese Bezeichnung mit einiger Vorsicht anwendbar schien. Dieser Bacillus (No. 462) verhielt sich nämlich bei der Neisser-Färbung negativ und besaß dabei eine große Giftigkeit für Meerschweinchen.

Die Kulturprüfung der übrigen Bacillen ergab, daß auch sonst alle Uebergänge vorhanden waren; z. B. war die Vergärungsmöglichkeit für Traubenzucker bei echten virulenten Stämmen durchaus nicht gleich entwickelt, und andererseits besaßen die nach Form und Färbbarkeit zweifelhaften Diphtheriebacillen wie die Diphtheroiden (beide Gruppen avirulent) zum Teil erhebliche Vergärfähigkeit. Um die genannten Uebergänge nun übersichtlich vor Augen zu führen, bin ich folgendermaßen vorgegangen:

Ich bin mir wohl bewußt, daß mein Vorgehen eine gewaltsame Zergliederung der wahren Verhältnisse bedeutet, aber diesen Fehler teilt es mit jeder unserer willkürlichen Ordnungen, mit denen wir die Natur in Reiche, Arten usw. teilen. Ich gehe bei der Einteilung davon aus, daß dem echten Diphtheriebacillus 5 Eigenschaften zukommen, die den Diphtheroiden fehlen. Das sind:

1. Form und Lagerung, d. h. schlanke, lange Bacillen mit V- und T-Lagerung,
2. Färbbarkeit, d. h. Entfärbung bis auf die Polkörner bei der Neisserschen Doppelfärbung,
3. Wachstum im tiefen Agarstich, d. h. unter anaëroben Verhältnissen,
4. Vergärung des Traubenzuckers, d. h. bei Prüfung im Thielschen Nährboden Rötung und Trübung,
5. Virulenz, d. h. Bildung von Diphtheriegift (nachweisbar im Tierversuch, subkutan oder intrakutan).

1) Für die Unterscheidung der Diphtherie- von den Pseudodiphtheriebacillen erkannte ich in genannter Arbeit nur die weiter unten angegebenen 5 Kennzeichen als allein verlässlich. Nur der Bacillus, der alle 5 Kennzeichen voll besitzt, gehört zum vollen Typus des Diphtheriebacillus.

Der Abkürzung halber werden die 5 Eigenschaften mit 5 Buchstaben bezeichnet: **m** bedeutet also Form (Morphologie), **n** = Färbbarkeit (Neisser), **t** = Tiefenwachstum im Agarstich, **s** = Säurebildung (Vergärung von Traubenzucker), **v** = die Virulenz.

Nach der Feststellung des Verhaltens in diesen 5 verschiedenen Richtungen bestimme ich ganz einfach die Zahl der übriggebliebenen „typischen“ Eigenschaften. Wenn die Prüfung auf die eine oder die andere Eigenschaft zweifelhaft ausgefallen ist, so läßt sich das ebenfalls sehr gut durch einen Bruch ausdrücken.

Wenn z. B. ein Bacillus in Form, Färbbarkeit und im Agarstich sich „typisch“ verhält, aber avirulent ist und den Thiel nur schlecht rötet, so hat er **s** zur Hälfte und **v** ganz verloren; ich schreibe das sehr einfach $s/2 v$. In den übrigen Punkten ist er normal geblieben, seine Zahl der typisch gebliebenen Punkte ist also $3\frac{1}{2}$; die volle Formel für den Stamm ist dann also: $3\frac{1}{2} s/2 v$. Fehlt einem Stamme an 2 Eigenschaften die Hälfte, ist er z. B. Neisser zweifelhaft und im tiefen Agarstich zweifelhaft, so erhält er den Bruch $2/2$. So hat z. B. der Stamm 265 b die Formel: $1\frac{1}{2} = m n/2 t/2 v$, d. h. er ist in einem ganzen und zwei halben Punkten typisch; vollkommen atypisch ist er in **m**, auch in **v**; bei der Prüfung von **n** und **t** verhält er sich zweifelhaft.

Tabelle I.

I. Von den 24 echten Diphtheriebacillen waren typisch in allen 5 Punkten 19.

Stamm No.	war typisch in . . . Punkten	es fielen aus die Punkte
201	4 (+ $\frac{1}{2}$)	v (schwach)
122 (av.)	4	v
6709 (av.)	4	v
462 (vir.)	4	n
188 (av.)	3	s und v

II. Von den 4 zweifelhaften:

84	$3\frac{1}{2}$	m/2 und v
87	$2\frac{1}{2}$	m/2 t und v
375	$2\frac{1}{2}$	m t/2 und v
85	$\frac{2}{2}$	m/2 n/2 t s v

III. Von den 16 Diphtheroiden:

2656	$1\frac{1}{2}$	m n/2 t/2 v
80	1	m t s v
282	$\frac{1}{2}$	m n/2 t s v
2049	$\frac{1}{2}$	m n t s/2 v

Die übrigen 12 waren in allen Punkten atypisch.

Soweit die Verhältnisse überhaupt mit Zahlen ausgedrückt werden können, zeigt sich ganz deutlich, daß hier von dem in allen 5 Punkten typischen Diphtheriebacillus bis zum Diphtheroiden, der gar keinen der 5 Punkte mehr besitzt, nahezu alle Uebergänge vorhanden sind.

Wenn nun auch alle diese Beobachtungen die Wahrscheinlichkeit eines Zusammengehörens des Diphtheriebacillus und des Pseudodiphtheriebacillus ergeben, so haben sie doch nur den Wert eines „Indizienbeweises“. Eine endgültige Lösung der Frage konnte nur dann gefunden werden, wenn es gelang, den einen in den anderen Bacillus überzuführen. Diesen Weg hatten einige Forscher bereits vor

längerer Zeit beschritten. Schon Roux und Yersin berichteten von solchen Versuchen, aber allen diesen Erfolgen kann entgegengehalten werden, daß vielleicht doch nicht „mit reinen Linien“ der betreffenden Bakterien gearbeitet worden ist. Es war bei den gewöhnlichen Reinkulturen nicht auszuschließen, daß in ihnen 2 oder gar mehrere Stämme ständig in gleichem Maße weiter gezüchtet wurden.

Auf dem Mikrobiologentag in Berlin 1913 beschrieben nun Bernhardt und Paneth eine neue Versuchsanordnung, mit Hilfe deren sie sicher reine Linien der Diphtheriebacillen in pseudoartige umwandeln konnten. Wenn nämlich Diphtheriebacillen durch den Tierkörper geschickt wurden, indem sie Meerschweinchen in die Blutbahn eingespritzt wurden, so waren sie bei der Herauszüchtung aus der Milz, aus der Leber usw. zum Teil in Form und Färbbarkeit verwandelt, so daß sie durchaus wie Pseudodiphtheriebacillen erschienen; sie waren gleichzeitig auch avirulent geworden.

In diesem Vorgehen lag nun eine Möglichkeit, auf einem neuen Wege die Beziehungen der Diphtherie- zu den Pseudodiphtheriebacillen zu klären. Aber auch die rein wissenschaftlichen Fragen der Vererbung bei Diphtheriebacillen konnten auf diese Weise für einen neuen Bakterienkreis erforscht werden, und so begann ich denn sofort nach Abschluß der oben genannten Arbeit mit Umwandlungsversuchen bei Diphtheriebacillen. Ganz kurz ist über einen Teil dieser Versuche bereits von Römer in der Berlin. klin. Wochenschr. 1914 berichtet worden.

Bevor ich auf die genaue Schilderung meiner Versuche eingehe, möge noch etwas über die umbildende Kraft des Menschenkörpers auf die Diphtheriebakterien gesagt sein.

Schon von Frosch war im Anfange der 90er Jahre beobachtet worden, daß, wenn Diphtheriebacillen im Innern von Diphtherieleichen gefunden wurden, dieselben häufig ganz atypisch waren. Jakobsthal berichtete auf dem Mikrobiologenkongreß in Berlin 1912 von mehreren aus Leichenblut gezüchteten Stämmen, avirulenten und pseudodiphtherieartigen. Und auf dem Kongreß des Jahres 1913 berichtete Gräff, daß die Diphtheriebacillen, die offenbar durch das Körperinnere gewandert und dann im Urin nachgewiesen wurden, häufig so umgewandelt waren, daß sie wie Pseudodiphtheriebacillen erschienen.

Bernhardt und Paneth machten auch darauf aufmerksam, daß die Diphtheriebacillen, die in der Nase zu finden seien und dank diesem Standorte häufig und gründlich mit den Körpersäften in Beziehung kommen, viel öfter von der typischen Form abweichen.

Daß auch andere Bakterien durch den Aufenthalt im Menschenkörper verwandelt werden können, wurde auch des öfteren schon beschrieben. So züchtete Gottschlich z. B. aus Beuleneiter bei chronischer Pest avirulente Pestbacillen, die sich auch sonst von den echten Pestbacillen unterschieden.

Kruse weist darauf hin, daß die meisten „mutierenden“ Stämme der Typhus-Coli-Gruppe solche seien, die durch den menschlichen Körper durchgegangen und in den Faeces oder im Urin gefunden seien, u. a. m.

I.

Die Umformung der Diphtheriebacillen durch den Meerschweinchenkörper.**A. Verwandlungsversuche durch Einspritzung in die Blutbahn von Meerschweinchen.**

Bei meinen Untersuchungen stellte ich zuerst fest, wie Römer bereits berichtet hat, daß diese von Bernhardt und Paneth berichteten Umschläge mit einiger Regelmäßigkeit bei fast allen Diphtheriestämmen, wenn auch in wechselnder Stärke, durch Einspritzung in die Blutbahn der Meerschweinchen zu erzielen sind. Sodann schloß ich auch die Möglichkeit aus, daß es sich bei der Herauszüchtung der diphtheroid gewordenen Formen um irgendwelche Verunreinigung handeln könne, indem ich eine große Reihe Tiere, die für andere Zwecke getötet waren, zu Vergleichsuntersuchungen benutzte. Es wurde diesen Tieren mit derselben Technik die Milz nach steriler Sektion entnommen und auf Loeffler-Serum ausgestrichen; niemals wuchsen auf den so behandelten Platten Diphtheroide oder sonstige diphtherieähnliche Stäbchen, auch nicht aus den Milzausstrichen von Tieren, denen einige Zeit vor der Tötung sterile Kochsalzlösung in die Blutbahn eingespritzt worden war.

Der Ausschluß einer solchen Möglichkeit ist deshalb von großer Bedeutung, da auf der Haut gesunder Meerschweinchen Pseudodiphtheriebacillen gefunden wurden. Daß die verwandelten Formen wirklich die Abkömmlinge der eingespritzten Diphtheriebacillen sind, dafür werden wir dann weiter unten noch andere Beweise kennen lernen.

Die Diphtheriestämme, die für die Umwandlungsversuche ausgewählt wurden, waren zunächst 8mal über Plattenreihen geschickt worden, und jedesmal wurde nur von einer Kolonie abgeimpft, um eine sichere reine Linie zu erhalten. Das Burrische Kulturverfahren aus einem Bacillus ist ja leider bei den Diphtheriebacillen nicht anwendbar. Wie Eisenberg festgestellt hat, ist jedoch eine 8mal wiederholte Plattenaussaat genügend für Erzielung einer „reinen Linie“. Besteht doch nur eine Wahrscheinlichkeit von 1 zu 500 Millionen, daß eine auf der 8. Platte aufkeimende Kolonie immer noch von 2 Bakterien abstamme.

Nachdem die oben schon erwähnten Vorversuche an 7 Stämmen gezeigt hatten, daß die Umwandlungen mit ziemlicher Regelmäßigkeit durch die Einspritzung in die Meerschweinchen zu erzielen sind, wurden 2 neue besonders typische Stämme auf die oben beschriebene Weise „gereinigt“. Ich möchte dabei noch bemerken, daß von jeder Platte eine Reihe von Kolonien mikroskopisch und makroskopisch untersucht wurde und daß nie ein Unterschied festzustellen war. Die Zahl der Stämme wurde auf zwei beschränkt, um eine möglichst eingehende Prüfung der Abkömmlinge vornehmen zu können. Es entstand aus diesen Stämmen eine sehr große Anzahl neuer, die alle aufs genaueste geprüft werden mußten.

Die Bezeichnung der Stämme war nach der Einsendungsnummer im Untersuchungsamt 117 und 131 gewesen. Dieselben waren aus klinisch sicheren Diphtheriefällen herausgezüchtet. Nach 8-facher Plattenaussaat erhielten sie die Bezeichnung 117 VIII und 131 VIII. Diese stellen also sicher „reine Linien“ dar. Ich möchte gleich hier bemerken, daß diese

beiden Stämme sich bis auf den heutigen Tag bei der einfachen Umzüchtung in keiner ihrer Eigenschaften verändert haben.

Die genannten Stämme wurden nun den Meerschweinchen jedesmal in der Menge von 1 Oese in das Herz eingespritzt. Gewöhnlich starb dann das Meerschweinchen innerhalb 3—4 Tagen. Blieb es munter, so wurde es nach einer wechselnden Zahl von Tagen getötet.

Vor der Sektion wurde sodann das Meerschweinchen reichlich mit Alkohol übergossen und so zunächst einige Minuten stehen gelassen, um auf diese Weise möglichst alle Bakterien, die sich auf der Haut befanden, abzutöten. Sodann wurde nach einem Mittelbauchschnitt, ohne das Bauchfell zu eröffnen, die Haut mit keimfreien Instrumenten nach beiden Seiten weit zurückpräpariert. Sodann wurde es zunächst wiederum reichlich mit Alkohol übergossen und nach einiger Zeit durch Neigen des Sektionsbrettes die überschüssige Flüssigkeit entfernt, damit bei der nun folgenden Oeffnung der Bauchhöhle kein Alkohol hineinfließen konnte. Diese Oeffnung geschah mit neuen keimfreien Instrumenten. Mit nochmals frischen Instrumenten wurde sodann rasch die Milz erfaßt, ein Stück von ihr abgeschnitten und mit der Schnittfläche auf eine oder mehrere Loeffler-Platten getupft. Da die im folgenden beschriebenen Bakterien immer nur auf diesen Tupfflecken aufkeimten, so ist auch das ein Beweis dafür, daß dieselben wohl aus der Milz und nicht anderswoher gekommen sind.

Aus diesen Milzabstrichen wuchs nun eine ganz verschiedene Zahl von Kolonien. Besonders im Anfang nach der ersten und auch noch nach der zweiten Meerschweinchenpassage war sie sehr groß. Nach den späteren Passagen nahm die Zahl der Kolonien ständig ab, zum Schluß wuchs aus den Ausstrichen überhaupt nichts mehr. Es sind verschiedene Stämme oftmals wieder eingespritzt worden, ohne daß es gelang, aus dem gespritzten Tier etwas herauszuzüchten.

Bei den ersten Passagen war, wie schon gesagt, die Zahl der aufsprießenden Kolonien sehr groß, es konnten infolgedessen aus diesen nicht alle Kolonien untersucht werden. Die größte Zahl der herausgezüchteten Kolonien betrug 14 Stämme; wenn dann später die Zahl, wie eben geschildert, nachließ und nur einzelne Kolonien aufsprossen, dann wurden natürlich alle untersucht und, soweit es möglich war, weiter gezüchtet. Es muß hier gleich auf eine Eigentümlichkeit besonders der stärker veränderten Stämme hingewiesen werden. Wie auch schon Bernhardt und Paneth beobachtet haben, sind dieselben sehr oft in ihrer Wachstumskraft geschädigt, so daß das Aufsprießen der Kolonien erst 2—3—4 Tage nach dem Ausstrich zu bemerken ist.

Um die neu erzielten Stämme nun ohne weiteres gut auseinanderhalten zu können, führte ich eine besondere Bezeichnungsweise für sie ein. Der Ausgangsstamm bekam, wie ich schon erläutert hatte, als Zeichen seiner reinen Linie die Zahl VIII. Die Stämme, die durch ein Meerschweinchen gegangen waren, wurden ganz einfach mit einem M versehen, und wenn der betreffende Stamm aus dem ersten Versuchstier herausgezüchtet worden war, so bekam er dazu noch die Zahl I. Wurden nun aus demselben Tiere verschiedene Stämme herausgezüchtet, so wurden diese mit arabischen Ziffern 1, 2 etc. versehen. Beispiel: Von dem Stamm 117 wurden aus dem ersten Versuchstier 2 Stämme herausgezüchtet; dieselben erhielten die Bezeichnung: 117 M I 1 und 117 M I 2 (vgl. die nachstehende Stammbaumtafel II). Bei der zweiten Meerschweinchenpassage wurde diese Herkunft durch die römische II

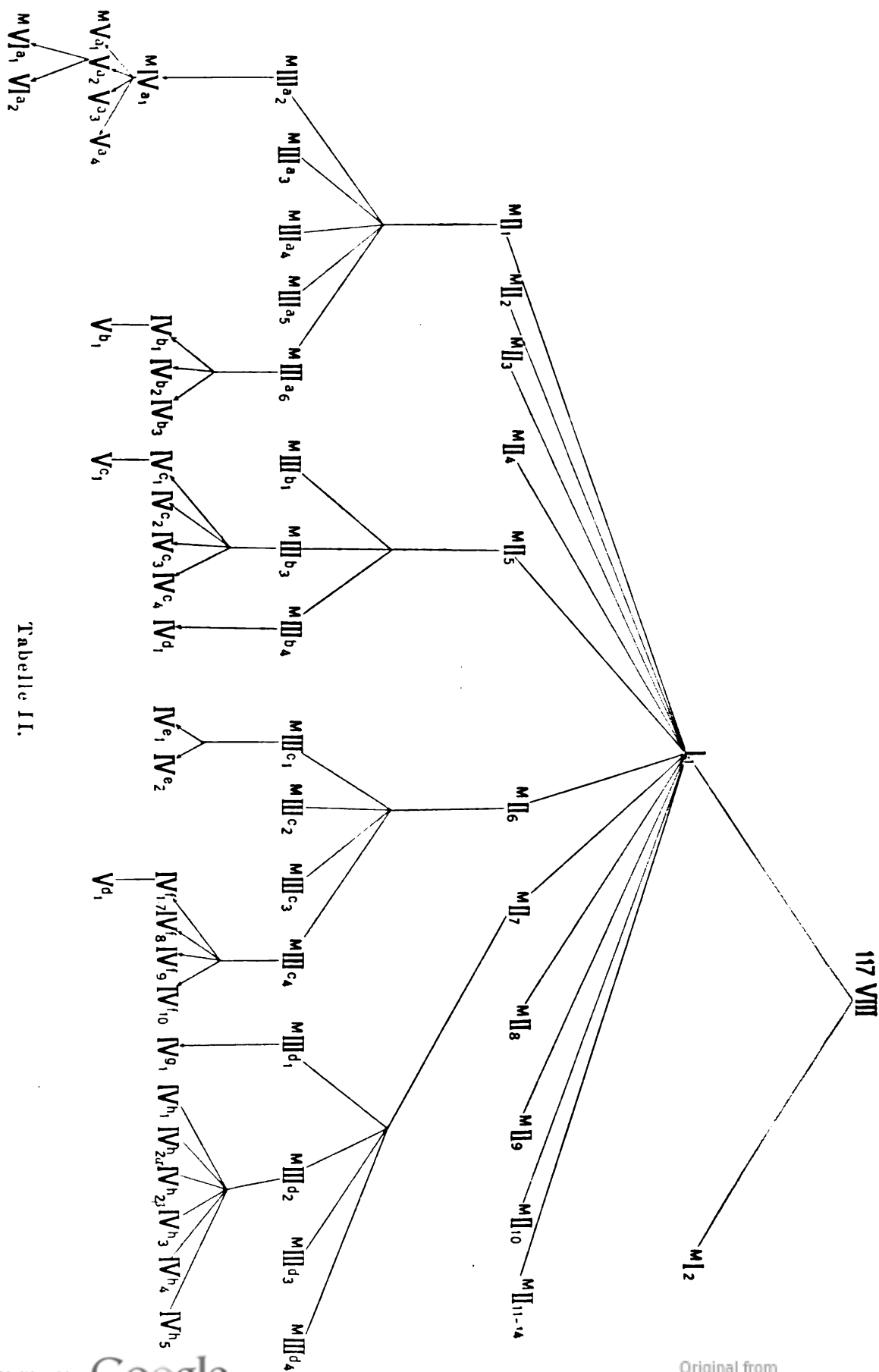


Tabelle II.

ausgedrückt, so daß die 14 aus der zweiten Meerschweinchenpassage herausgezüchteten Stämme die Bezeichnung 117 M II 1—14 erhielten. Noch schwieriger wird die Bezeichnung jedoch von der dritten Passage ab. Ich begnügte mich nicht damit, von den aus der zweiten Passage herausgezüchteten 14 Stämmen nur einen wieder einem Meerschweinchen einzuspritzen, sondern ich spritzte von diesen M II-Stämmen wieder vier ein. Um nun die daraus gewonnenen M III-Stämme auseinanderhalten zu können, unterschied ich die verschiedenen M III-Gruppen nun mittels kleiner Buchstaben des Alphabetes. So erhielten die aus dem Stamm 117 M II 1 hervorgegangenen Stämme die Bezeichnung 117 M III a 2—6. 117 M III a 1 wurde nicht weiter berücksichtigt, da die auf diese Weise

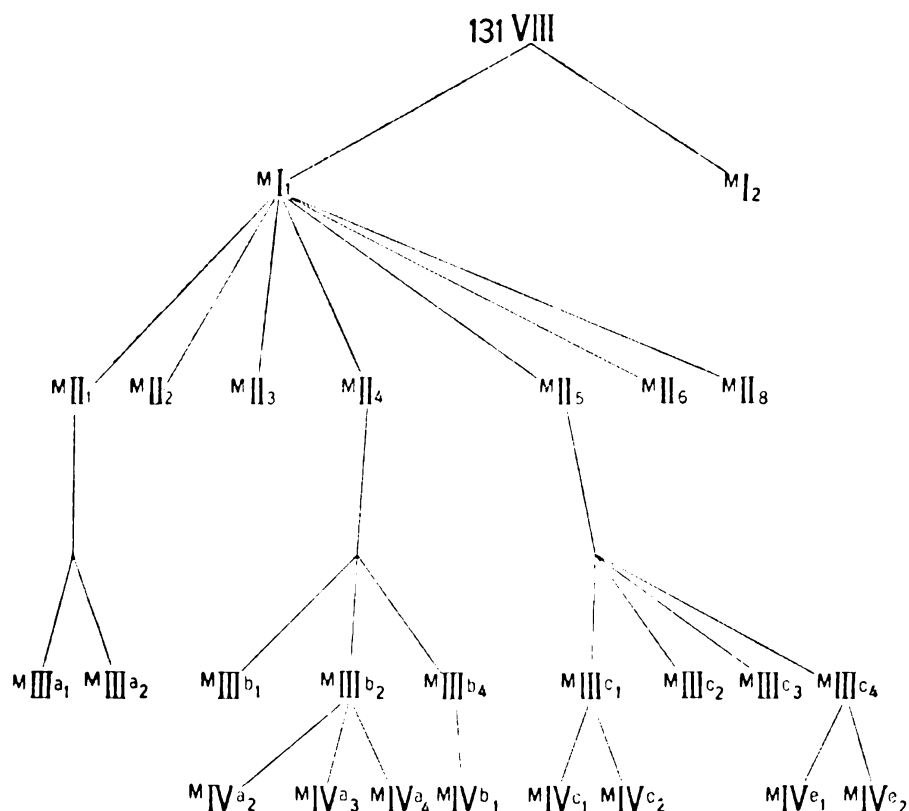


Tabelle III.

bezeichnete Kolonie eine Kokkenverunreinigung der Platte gewesen war. Es wurden nämlich immer die Kolonien zuerst mit der neuen Bezeichnung versehen und dann dieselbe im mikroskopischen Präparate untersucht. Erwies sich dann, was nur selten vorkam, eine Kolonie als zufällige Verunreinigung (Kokken), so wurde sie als nicht bestehend gelöscht und selbstredend auch nicht weiter gezüchtet. Die Stämme, die aus dem Stamm 117 M II 5 hervorgingen, bekamen die Bezeichnung 117 M III b 1—4 und so fort. In der gleichen Weise wurde in der vierten, fünften und sechsten Passage die Bezeichnung durchgeführt. Es ist also an dieser Bezeichnung auf den ersten Blick folgendes zu sehen: die römische Ziffer gibt die Zahl der Meerschweinchen an, durch die der Stamm durchgegangen ist, und alle Stämme, die die gleiche römische Zahl und den gleichen Buchstaben besitzen, sind aus demselben Meerschweinchen herausgezüchtet, gehören also zu einer engeren Gruppe zusammen.

Tabelle IV. In-

Spalte a: s. l. s. sehr lang schlank Spalte b: ++ sehr gut (positiv)
 ml. mittellang + gut (positiv)
 k. pl. kurz plump ± nur kleine Anzahl positiv.
 kl. klumpend auch atypisch (zweifelhaft)
 0 ganz negativ

Nummer der Stämme	Abstammung	a) Aussehen (Form und Lagerung)		b) Neisser-Färbung
		bei der 1. Züchtung	bei späteren Züchtungen	
117 Pass. VIII	117	s. l. s.	immer das gleiche Verhalten	++
117 M I 1	117 VIII	l. s.	"	++
117 M I 2	117 VIII	ml. k. pl.	s. k. pl.	0
117 M II 1	117 M I 1	l. s.	+
117 M II 2	"	"	+
117 M II 3	"	"	+
117 M II 4	"	ml. pl. u. k.	ab 2. Zt. s. l. s.	+
117 M II 5	"	"	"	±
117 M II 6	"	"	"	0 später ++
117 M II 7	"	l. s.	"
117 M II 8	"	"
117 M II 9	"	"	0
117 M II 10	"	"	+
117 M II 11	"	"	+
117 M II 12	"	"	+
117 M II 13	"	"	+
117 M II 14	"	"	+
117 M III a 2	117 M II 1	"	+
117 M III a 3	"	"	++
117 M III a 4	"	"	+
117 M III a 5	"	"	+
117 M III a 6	"	"	++
117 M III b 1	117 M II 5	"	±
117 M III b 3	"	"	±
117 M III b 4	"	"	+
117 M III c 1	117 M II 6	"	+
117 M III c 2	"	"	+
117 M III c 3	"	"	+
117 M III c 4	"	"	± später +
117 M III d 1	117 M II 7	k. pl.	s. k. pl. klumpig	+ atyp.
117 M III d 2	"	l. s.	0 später +
117 M III d 3	"	"	±
117 M III d 4	117 M II 7	"	0 später ++
117 M IV a 1	117 M III a 2	s. l. s. etwas starr	r. Zt. ±, später ganz 0, nach 8 Monat. 0, nach 11 Mon. + atyp.

jektionsstämme 117.

Spalte c: ++ sehr gutes Wachstum
 + gutes Wachstum
 + mäßiges Wachstum
 ± spärliches Wachstum
 0 kein Wachstum

negativ

Spalte d: hr. tr. hellrot trüb
 mr. tr. mittelrot trüb
 unv. kl. unverändert klar

Spalte e und g
 siehe Text

c) Wachstum in tiefem Agarstich	d) Verhalt. im Thiel- schen Nährboden	e) Virulenz		f) Bemerkungen	g	
		¹ / ₁₀ Oese	1 Oese		Also atypisch in den Punkten:	Typisch in ... Punkten
++	48 St. hr. tr.	N	.	.	—	5
++	"	N	.	.	—	5
++	etwas ger. 5 Tage	0	0	.	m n s/2 v	1 1/2
++	48 St. hr. tr.	N	.	.	—	5
++	"	ri	N	.	—	5
++	"	N	.	.	—	5
++	"	ri n	.	.	—	5
++	"	N	.	.	(n?)	5 (4?)
0 spät. ++	"	ri	ri †	.	anf. n t m/2, spät. —	anf. 2 1/2, spät. 5
+	"	0	ri †	.	anf. n?, spät. —	anf. 4, spät. 5
.	.	.	.	schlechtes Wachstum, schließlich 0	.	.
.	.	n	.	dgl.	.	.
++	48 St. hr. tr.	N	.	.	n?	4—5
.	.	N	.	nicht weiter gezüchtet	.	.
.	.	N	.	dgl.	.	.
.	.	N	.	"	.	.
.	.	N	.	"	.	.
+	48 St. hr. tr.	N	.	.	t?	4—5
+	"	Qn	.	.	t?	4—5
++	3 Tage hr. tr.	Qn	.	.	—	5
++	48 St. hr. tr.	Qn	.	.	—	5
+ später +	"	qn	.	.	anf. t?, spät. —	anf. 4, spät. 5
+	"	N	.	.	n?	4—5
0 später ++	"	0	N	.	anf. n? t?, spät. n?	anf. 3—4, spät. 4—5
+	"	N	.	.	t?	4—5
+	24 St. hr. tr.	N	.	.	t?	4—5
++	"	n	.	.	—	5
+	"	n	.	.	—	5
++	"	n	.	.	anf. n?, spät. —	anf. 4, spät. 5
0	48 St.	0	0	.	m n/2 t v	1 1/2
+	"	N	.	.	anf. n (t?), spät. t?	anf. 3—4, spät. 4—5
++	3 Tage hr. tr.	n	.	.	n?	4—5
+	"	i	N	.	anf. n (t?), spät. t?	anf. 3—4, spät. 4—5
++	48 St. hr. tr.	N	.	trotz großer Virulenz mo- natelang beharrlich Neis- ser —	n	4

Tabelle IV

Nummer der Stämme	Ab- stammung	a) Aussehen (Form und Lagerung)		b) Neisser- Färbung
		bei der 1. Züchtung	bei späteren Züchtungen	
117 M IV b 1	117 M III a 6	l. s.	++
117 M IV b 2	"	l. p. enorme Degene- rationsform. Ver- zweigungen	+
117 M IV b 3	"	l. starr	2. Zt. Lager. typ., Form atyp, nach 1 Jahr sehr pl. klump., et- was gequollen (Kürbisform)	1. Zt. 0, später atyp. voll. ausfüllend
117 M IV c 1	117 M III b 3	l. ml.	2. Zt. kürzer. Parallel- lagerung	0 später + atyp.
117 M IV c 2	"	l. s.	2. Zt. kürzer, klump.	± atyp.
117 M IV c 3	"	k. pl. parall. stark klumpend	± atyp.
117 M IV c 4	"	k. pl.	2. Zt. u. spätere ganz kurz, fast kokkenf.	+ atyp. voll.
117 M IV d 1	117 M III b 4	"	kl.	± atyp.
117 M IV e 1	117 M III c 1	l. s.	später s. k., stark kl.	± "
117 M IV e 2	"	l. p. u. mlp.	später k. pl., Spindelformen	± "
117 M IV f 1	117 M III c 4	l. s.	++
117 M IV f 2	"	"	++
117 M IV f 3	"	"	++
117 M IV f 4	"	"	++
117 M IV f 5	"	"	++
117 M IV f 6	"	"	++
117 M IV f 7	"	"	++
117 M IV f 8	"	ml.	2. Zt. kürzer pl. parallel, 1 Jahr ml. u. k.	± atyp.
117 M IV f 9	"	l. s. klump.	2. Zt. ml. u. kurz, 1 Jahr s. k. pl., sehr stark kl.	0
117 M IV f 10	"	l. s.	0
117 M IV g 1	117 M III d 1	"	2. Zt. k. pl. parallel, 3. Zt. sehr kurz	± atyp.
117 M IV h 1	117 M III d 2	l. u. k.	2. Zt. k. parallel, 3. Zt. sehr kurz, ebenso 1 Jahr	± "
117 M IV h 2 α	"	s. k. pl.	± "
117 M IV h 2 β	"	k. u. läng. Form	nach 1 Jahr s. pl., stark kl.	± "
117 M IV h 3	"	ml. u. k. parallel.	2. Zt. s. pl. kl., 1 Jahr s. klein	+ atyp.
117 M IV h 4	"	s. l. Degenerat.	(von 2. Zt. ab immer kürzer	0 nach 1 J. ±
117 M IV h 5	"	l. u. k.	s. k. pl.	0 nach 1 J. + atyp.
117 M V a 1	117 M IV a 1	l. schlank.	± später +
117 M V a 2	"	l. s.	0 später +
117 M V a 3	"	ml. pl. kl.	s. pl.	+ atyp.

(Fortsetzung).

c) Wachstum in tiefem Agarstich	d) Verhalt. im Thiel- schen Nährboden	e) Virulenz		f) Bemerkungen	g)	
		¹ / ₁₀ Oese intrakutan	1 Oese		Also atypisch in den Punkten	Typisch in ... Punkten
+	48 St. hr. tr.	N	.	schlechtes Wachstum, schließlich 0	—	5
+	10 Tage unveränd.	.	0	t s v	2
++	„	0	0	t n/2 s v	1 ¹ / ₂
++	48 St. hr. tr.	0	0	m/2 n/2 v	2 ² / ₂
++	3 Tage hr. tr.	0	0	m/2 n/2 v	2 ² / ₂
+	48 St. hr. tr.	0	0	m n/2 v	2 ¹ / ₂
++	3 Tage hr. tr.	0	0	m n/2 v	2 ¹ / ₂
+	48 St. hr. tr.	0	0	schlechtes Wachstum, schließlich 0	m n/2 v	2 ¹ / ₂
±	10 Tage unveränd.	0	0	m n/2 t s v	1 ¹ / ₂
+	„	0	0	anf. n/2 s v, spät. noch m	anf. 2 ¹ / ₂ , spät. 1 ¹ / ₂
++	3 Tage hr. tr.	n	—	5
++	48 St. hr. tr.	Ri +	—	5
+	„	n	—	5
++	„	n	—	5
++	„	n	—	5
++	3 Tage hr. tr.	n	—	5
++	„	n	—	5
+	10 Tage unveränd.	0	0	m/2 n/2 s v	1 ² / ₂
0	„	0	0	anf. n t s v, spät. noch m	anf. 1, spät. 0
0	„	0	0	schlechtes Wachstum, schließlich 0 nach einigen Monaten	n t s v	1
—	—	—	—	Stamm n. d. 3. Züch- tung eingegangen
+	10 Tage unveränd.	0	0	anf. m/2 n/2 s v, spät. m	anf. 1 ² / ₂ , spät. 1 ¹ / ₂
+	„	0	0	m n/2 s v	1 ¹ / ₂
+	„	0	0	m n/2 s v	1 ¹ / ₂
+	„	0	0	m n/2 s v	1 ¹ / ₂
+	„	0	0	anf. n s v, sp. noch n/2 m	anf. 2, spät. 1 ¹ / ₂
+	„	0	0	anf. n s v, spät. m n/2	„ 2, „ 1 ¹ / ₂
++	48 St. hr. tr.	n	anf. n/2, spät. —	anf. 4 ¹ / ₂ , spät. 5
++	„	ri +	anf. n, spät. —	anf. 4, spät. 5
++	10 Tage unveränd.	0	0	nach einigen Monaten eingegangen	m n/2 s v	1 ¹ / ₂

Tabelle IV

Nummer der Stämme	Ab- stammung	a) Aussehen (Form und Lagerung)		b) Neisser- Färbung
		bei der 1. Züchtung	bei späteren Züchtungen	
117 M V a 4	117 M IV a 1	k. pl.	± atyp.
117 M V b 1	117 M IV b 1	Enorme Degen- ner.-Kolben	ml. parallel gelagert, kl.	± atyp.
117 M V c 1	117 M IV c 1	„	2. Zt. pl. aufgetrieben, 1 Jahr ganz enorm große, geblähte „Kürbisformen“ stark färbb. Körner	
117 M V d 1	117 M IV f 1	l.	von 2. Zt. ab immer kürzer u. plumper	0
117 M VI a 1	117 M V a 2	ml. pl.	2. Zt. dgl. Spindelformen u. kurze, nach 1 Jahr l. s.	0
117 M VI a 2	„	ml. pl. u. k.	2. Zt. k. pl. parallel, 1 Jahr l. s.	+ atyp.

Zur besseren Veranschaulichung dieser Verhältnisse verweise ich nochmals auf die vorstehenden zwei Stammbaumtafeln (Tabelle II und III) der Stämme 117 und 131. In der nächsten großen Tabelle IV sind sodann die Prüfungsergebnisse des Stammes 117 und seiner Abkömmlinge zusammengestellt. Das gleiche findet sich in der Tabelle V für die Stämme 131. Zu der Methodik der Untersuchung sei noch mitgeteilt, daß die meisten Prüfungen mehreremal ausgeführt sind. Sofort bei der Abimpfung der Ursprungskolonie wurden Form und Lagerung, bei der ersten Reinkultur nach 24 Stunden nochmals Form und Lagerung sowie der Ausfall der Neisser-Färbung beurteilt¹⁾. Beide Prüfungen wurden je nach der Art des betreffenden Stammes zu den verschiedensten Zeiten wiederholt. Sobald eine gute Reinkultur vorhanden war, wurde nun sowohl der Thielsche Nährboden beimpft wie der Agarstich ausgeführt. Verhielt sich in einer dieser Prüfungen das Bakterium irgendwie zweifelhaft, so wurde die Prüfung ein- bis mehreremal wiederholt. Wenn es dabei vorkam, daß die erste Prüfung im Thielschen Nährboden oder im Agarstich negativ ausgefallen war, die zweite unmittelbar darauf angestellte jedoch sofort stark positiv ausfiel, so wurde die erste Prüfung vernachlässigt. Ein Rückschlag wurde erst dann angenommen, wenn eine Reihe von Wiederholungen ein eindeutig negatives oder zweifelhaftes Resultat ergaben, dieselbe Prüfung in späterer Zeit jedoch positiv ausfiel. Gleichzeitig mit allen diesen Prüfungen wurde sodann die Virulenz festgestellt und zwar in der Weise, die ich bereits in meiner oben erwähnten Arbeit als die beste erkannt hatte. Die Stämme wurden in der Menge $\frac{1}{10}$ Oese in 0.1 ccm Kochsalzlösung in die Haut eingespritzt. War diese Prüfung erfolglos, so wurde die zehnfach größere Menge, 1 Oese Bakterien, in der gleichen Weise einem frischen Tier in die Haut eingespritzt. War auch diese Prüfung ergebnislos, so wurde sie gegebenenfalls nochmals wiederholt. Weitere Prüfungen mit großen Mengen Bouillonkulturfiltraten wurden nicht vorgenommen, weil ich die Erfahrung gemacht hatte, daß solche Stämme, die nach Einspritzung einer Oese

1) Alle Prüfungen der Morphologie und Färbbarkeit wurden an 24-stündigen Kulturen auf Loeffler-Serum vorgenommen. Zur Weiterzüchtung und Aufbewahrung wurde jeder Stamm auf Glycerinagar gebracht.

(Fortsetzung).

c) Wachstum in tiefem Agarstich	d) Verhalt. im Thiel- schen Nährboden	e) Virulenz		f) Bemerkungen	g)	
		$\frac{1}{10}$ Oese intrakutan	1 Oese		Also atypisch in den Punkten	Typisch in ... Punkten
++	48 St. hr. tr.	0	0	nach einigen Monaten eingegangen	m n/2 v	2 $\frac{1}{2}$
+	10 Tage mr. klar	0	0	anf. n/2 t/2 s v, spät. noch m/2	anf. 2/2, spät. 3/2
+	10 Tage mr. trüb	0	0	anf. n/2 t/2 s v, spät. noch m/2	anf. 1 $\frac{1}{2}$, spät. 3/2
0	10 Tage unveränd.	0	0	anf. m/2 n t s v, spät. noch m	anf. 1/2, spät. 0
+	"	0	0	anf. m n t/2 s v, spät. n t/2 s v	anf. 1/2, spät. 1 $\frac{1}{2}$
+ später +	10 Tage mr. trüb	0	0	anf. m n/2 s v, spät. n/2 t/2 s v	anf. 1 $\frac{1}{2}$, spät. 1 $\frac{1}{2}$

in die Haut keine Reaktion auslösten, auch bei der Filtratprüfung versagten. Die auf die Hauteinspritzung beobachteten Reaktionen sind folgende:

0 = nichts, r = kleine Rötung, ri = kleine Rötung, kleines Infiltrat; diese drei Befunde wurden als negativ angenommen; q = kleine Quaddel, n = kleine Nekrose, Q = große Quaddel, N = große Nekrose, † Tod; diese Befunde wurden als positiv betrachtet. Dabei ist zu bemerken, daß, wenn ein kleines q beobachtet wurde, sich daran regelmäßig ein kleines n anschließt, dasselbe Verhältnis besteht gewöhnlich zwischen Q und N.

Wie gesagt, wurden die neu erhaltenen Stämme immer von einzelnen Kolonien abgeimpft; da die erste mikroskopische Untersuchung nie eine Anwesenheit von zwei verschiedenen Bakterienarten in der einen Kolonie ergab, so glaube ich, daß wohl alle erhaltenen neuen Stämme als reine Linien anzusehen sind. Streng genommen müßte ja auch hier eigentlich jedesmal mit Hilfe des Plattensatzes jede Linie neu gereinigt werden, jedoch war das bei der außerordentlich geringen Wachstumsstärke der Stämme im Anfang häufig nicht gut möglich. Auch zur Beobachtung der Rückschläge wäre es eigentlich wünschenswert, von Zeit zu Zeit die einzelnen Glieder einer solchen Kultur durch Plattenaussaat und Abimpfung von Einzelkolonien zu prüfen, jedoch würde dadurch das Arbeitsmaß für die Prüfung der sich ins Ungemessene steigenden Zahl der Bakterien in nicht zu bewältigender Weise vergrößert worden sein. Es ist wohl zu wünschen, daß für das eine oder andere Bakterium eine solche Prüfung einmal durchgeführt wird; mir kam es jedoch darauf an, eine möglichst große Zahl von einzelnen Stämmen ganz durchgeprüft zu haben und ihre Eigenschaften festzulegen. Ich begnügte mich deshalb damit, die aus den Loeffler-Platten herausgezüchteten Stämme als reine Linien zu betrachten und sie je nach ihrer Eigenschaft mehr oder minder oft auf ihre Unveränderlichkeit zu prüfen.

Wenn wir nun die Prüfungsergebnisse der verschiedenen Abkömmlinge der Stämme 117 und 131 zunächst einmal einzeln besprechen, so läßt sich ganz allgemein beobachten, daß die verschiedenen Stämme in allen 5 Prüfungen ein untereinander außerordentlich wechselndes Verhalten erkennen lassen.

Tabelle V. In-

No. des Stammes	Abstammung	a) Aussehen (Form und Lagerung)		b) Neisser-Färbung
		bei der 1. Züchtung	bei späteren Züchtungen	
131 (Pass.VIII)	131	l. s.	++
131 M I 1	131 VIII	l. s.	++
131 M I 2	"	l. s.	++
131 M II 1	131 M I 1	ziemlich kurze Formen, etwas plump	l. s.	1. Zt. 0 folg. ++
131 M II 2	"	l. s.	± „ ++
131 M II 3	"	l. s.	0 „ ++
131 M II 4	"	l. s.	+
131 M II 5	"	l. s.	++
131 M II 6	"	ml. u. k. später l. s.	++
131 M II 8	"	ml. s.	++
131 M III a 1	131 M II 1	z. k. pl. parallel	im wesentl. dasselbe, klumpend	0
131 M III a 2	"	z. k. pl.	klumpig sonst dasselbe	0
131 M III b 1	131 M II 4	k. pl. u. ml.	sehr k. pl. klumpig	0
131 M III b 2	"	l. s.	+
131 M III b 4	"	l. s.	++
131 M III c 1	131 M II 5	l. s.	++
131 M III c 2	"	l. s.	++
131 M III c 3	"	l. s.	++
131 M III c 4	"	l. s.	+
131 M IV a 2	131 M III b 2	k. pl. klumpig	2. Zt. noch kürzer, später länger	0
131 M IV a 3	"	l. s.	k. pl. am Schluß länger	0
131 M IV a 4	"	l. pl. Spindelform	sehr k. pl., später wied. aufgetriebene pl. Form	0
131 M IV b 1	131 M III b 4	l. s.
131 M IV c 1	131 M III c 1	k. pl.	0
131 M IV c 2	"	l. s.	0
131 M IV e 1	131 M III c 4	l. s. u. k. p.	2. Zt. nur k. u. pl., klumpig	± atypisch
131 M IV e 2	"	ml. u. k. pl.	2. Zt. Degenerat. Keulen und viele kurze	± „

Tiefer Agarstich. Bei anaëroben Verhältnissen finden wir Uebergänge vom besten Wachstum bis zum schlechtesten, ja auch Rückschläge von 0 zu ++ oder von + zu + wurden beobachtet, einmal auch eine Veränderung des guten Wachstums zum schlechten (117 M VI a 2).

Prüfung im Thielschen Nährboden. Auch bei der Prüfung

jektionsstämme 131.

e) Wachst. tum im tiefen Agarsch	d) Verhalten im Thielschen Nähr- boden	e) Virulenz		f) Bemerkungen	g)	
		$\frac{1}{10}$ Oese intrakutan	1 Oese		Also atypisch in den Punkten	Typisch in ... Punkten
++	48 St. hr. tr.	N	.	.	—	5
++	"	N	.	.	—	5
++	"	ri n	.	.	—	5
++	24 St. hr. tr.	N	.	.	anf. m n, später —	anf. 3, später 5
++	"	RQ n	.	.	" n/2 " —	" 4 1/2 " 5
++	"	ri	N	.	" n " —	" 4 " 5
+	"	ri	N	.	—	5
++	"	0	N	.	—	5
++	"	ri	N	.	anf. m, später —	anf. 4, später 5
+	"	RI n	.	.	—	5
±	48 St. hr. tr.	0	0	.	m n t v	1
0	5 Tage hr. tr.	0	0	.	m n t v	1
±	.	0	0	schr. schlechtes Wachs- tum, s. hiefiglich 0	—	.
++	24 St. hr. tr.	N	.	.	—	5
+	48 St. hr. tr.	ri	ri Q	.	—	5
+	24 St. hr. tr.	ri n	.	.	—	5
+	"	0	ri	.	(v?)	4
+	"	Ri Q	.	.	—	5
++	"	0	ri Q	.	—	5
+	10 T. un- verändert	0	0	.	m n s v	1
+	"	0	0	.	anf. n s v, sp. noch m	1
+	"	0	0	.	m n s v	1
.	.	.	.	Stamm sofort einge- gangen	.	.
±	"	0	0	.	m n t s v	0
++	24 St. hr. tr.	0	ri 0	eingegangen	n v	3
0	5 Tage mr. tr.	0	0	.	anf. m/2 n/2 t s v, später m	anf. 3/2, später 2/2
++	2 Tage hr. tr.	0	0	.	m n/2 v	2 1/2

im Thielschen Nährboden finden wir alle Uebergänge. Die Ausgangsstämme 117 VIII und 131 VIII veränderten den Thielschen Nährboden innerhalb 48 Stunden so, daß er hellrot und trüb wurde. Wir sehen nun, daß einige Stämme offenbar eine Steigerung der Säurebildung erfahren haben, z. B. die Stämme 117 M III c, ferner die Stämme 131 M III c; noch einige andere haben die Eigenschaft erhalten, dieselbe

Säuremenge bereits nach 24 Stunden hervorzurufen. Bei anderen wieder ist die Säurebildung verzögert, tritt erst nach 3 Tagen oder nach 5 Tagen auf, manchmal ist sie nach 5 Tagen auch erst angedeutet und verstärkt sich auch nicht weiter, schließlich kann sie sogar erst nach 10 Tagen, wenn auch stark abgeschwächt, auftreten. So wird z. B. bei 117 M V b 1 der Thielsche Nährboden erst nach 10 Tagen eine Spur gerötet, bleibt aber klar, während bei 117 M VI a 2 zur selben Zeit eine geringe Rötung besteht, die aber noch mit einer Trübung verbunden ist. Die letzte Gruppe läßt auch nach 10 Tagen den Thielschen Nährboden vollkommen unverändert.

Virulenz. Auch die Virulenzprüfung zeigt starke Verschiedenheiten. Die normale Virulenz der Stämme 117 und 131 zeigte sich in Hervorrufung einer großen Nekrose auf die intrakutane Einspritzung von $\frac{1}{10}$ Oese Bacillen. Andere Stämme, die sich sonst fast unverändert zeigten, hatten trotzdem eine größere oder kleinere Einbuße ihrer Virulenz erlitten. Ferner ist bemerkenswert, daß fast alle Stämme, die die Virulenz vollkommen verloren haben, gewöhnlich auch in anderer Beziehung eine Einbuße hatten.

Neisser-Färbung¹⁾ (im allgemeinen). Auch diese ist bei den einzelnen Bakterien außerordentlich verschieden. Auch hier ließen sich Uebergänge von der stark positiven typischen bis zur vollkommen negativen nachweisen. Aber auch ganz atypische Formen, große, gut und schlecht färbbare Klumpen, ferner ganz kleine feine Körnchen wurden beobachtet. Besonders auffallend war jedoch, daß bei einzelnen Bakterien, die in ihrer Form und Lagerung vollkommen diphtheroid geworden waren, nun nicht etwa auch die Neisser-Färbung einfach fehlte (solches kam natürlich auch vor), sondern daß bei einzelnen die Neisser-Färbung nun so stark hervortrat, daß der ganze Bacillus sich trotz kräftiger Gegenfärbung in der Blaufärbung zeigte. Es war also der ganze Bacillus Neisser-positiv geworden. Das Nähere über die Neisser-Färbung soll weiter unten bei der Besprechung der Photographieen erwähnt werden. Hier nur soviel, daß die genannten Uebergänge, sowie die Rückschläge die Beurteilung außerordentlich erschwerten.

Form und Lagerung¹⁾ (im allgemeinen). Auch da zeigten sich alle Uebergänge. Lange schlanke, lange plumpe, mittellange schlanke, mittellange plumpe, kurze, kurze und plumpe Bacillen, starre Formen, gebogene Formen, typische V-Lagerung, Gruppenlagerung, Radspeichenlagerung, Parallellagerung. Alle diese Formen konnten in den verschiedensten Zusammenstellungen beobachtet werden. Ganz besonders auffallend war jedoch die Tatsache, daß eine große Anzahl der veränderten Stämme die merkwürdige Eigenschaft erwarb, nun stark aneinander zu klumpen; dieselben hatten gewöhnlich auf der Loeffler-Platte bereits ein trockenes Wachstum und waren schwer abzulösen, auch wuchsen sie schlecht und langsam. Die Klumpung war bei verschiedenen Stämmen so stark, daß es bei ihnen mit dem besten Willen nicht möglich war, im Präparate das einzelne Bakterium zu betrachten, sondern daß sie alle sich nur in dicken Klumpen aufgehäuft im Gesichtsfeld zeigten. Das Nähere auch über diese Form soll weiter unten bei der Besprechung der Photographieen erfolgen, und es sollen dann die einzelnen Bakterien, die sich besonders merkwürdig verhielten, genauer durchgesprochen werden.

1) Siehe Anm. auf S. 18.

Zunächst jedoch sei auf einiges Bemerkenswerte in der Tabelle selbst verwiesen. Wie ich schon oben hervorgehoben und wie es das Ziel meiner Untersuchung im Jahre 1913 gewesen war, ist es von Wichtigkeit, Formen zu finden, die zwar in einem oder mehreren Punkten sich atypisch verhalten, jedoch dabei noch Virulenz besitzen. Von der Mehrzahl dieser Bakterien wird weiter unten bei der zusammenfassenden Darstellung zu sprechen sein. Einer verdient es, bereits jetzt hier besonders erwähnt zu werden. Das ist der Stamm 117 M IV a 1. Derselbe war eigentlich in allen Punkten typisch, auch vollkommen virulent, jedoch in einem Punkte, in der Neisser-Färbung, verhielt er sich ziemlich stark abweichend. Bei der Herauszüchtung war die Neisser-Färbung sehr schwach, also zweifelhaft und wurde sodann vollkommen null, obwohl zur selben Zeit der Bacillus starke Virulenz darbot. Dieses Verhalten behielt er fast ein ganzes Jahr; bei mehrfachen Prüfungen wurden dieselben folgendermaßen ausgeführt: es wurde von einem frischen Kulturröhrchen nach 24-stündigem Wachstum ein Präparat nach Neisser angefertigt. Auf demselben Objektträger befand sich zum Vergleich ein typischer Diphtheriebacillus, dessen Neisser-Färbung immer positiv ausfiel. Es wurde sodann regelmäßig beobachtet, daß der Stamm 117 M IV a 1 sich gegen die Neisser-Färbung ablehnend verhielt. Sodann wurde sofort mit dem gleichen Material ein Meerschweinchen intrakutan geimpft und stets mit Erfolg. Erst nach ungefähr einem Jahre wurde derselbe Stamm etwas Neisser-positiv, jedoch verhielten sich auch da die Körnchen nicht ganz typisch und waren spärlich. Es ist bemerkenswert, daß die Abkömmlinge dieses Bacillus, die Stämme M V a 1—4, ebenfalls alle sich gegen die Neisser-Färbung atypisch verhielten. Zwei von diesen waren virulent, a 1 und a 2; beide wurden später Neisser-positiv, die beiden anderen waren avirulent. Die von dem Stamm M V a 2 abstammenden Stämme M VI a 1 und a 2 gehören wiederum zu den Merkwürdigkeiten des ganzen Versuches; denn hier finden wir bei ziemlich weitgehender allgemeiner Abänderung noch Rückschläge in der Morphologie. Hiervon unten mehr.

Morphologisches Verhalten und Neisser-Färbung bei den einzelnen Stämmen. Besprechung der Photographieen¹⁾.

Das Hauptgewicht der Beobachtung der veränderten Stämme lag ja nun natürlich in der Feststellung der Gestalt und der Färbbarkeit; haben wir doch hier bei den Diphtheriebacillen einen Vorsprung vor den übrigen Bakterien, z. B. bei der Coli-Gruppe. Bei der typischen Gestalt des Diphtheriebacillus lassen sich selbst geringe Veränderungen mit leichter Mühe feststellen. Ich beabsichtige nun nicht, jedes einzelne der in den Tabellen zusammengestellten Bakterien hier genau durchzusprechen, sondern ich möchte mich darauf beschränken, diejenigen zu behandeln, die ich auf den beigegebenen Tafeln photographisch abgebildet habe. Zugleich treten wir hiermit in die Behandlung einer Erscheinung ein, die uns in verschiedener Beziehung außerordentlich wertvoll ist. Wir haben schon oben gesehen, daß auch bei der Kulturprüfung, z. B. beim Wachstum im tiefen Agarstich, Veränderungen des Verhaltens nach der Herauszüchtung im Laufe der Zeit eintreten können.

1) Siehe Anm. S. 18. Auch die Photographieen sind alle nach Präparaten von 24-stündigen Serumkulturen angefertigt.

Wir sahen, daß diese Rückschläge bei der Kulturprüfung nur unvollkommen bemerkt werden können, weil man nicht ausschließen kann, daß das Ausbleiben einer Reaktion im Anfang nicht auf andere Gründe, z. B. geringe Wachstumsstärke, zurückzuführen ist. Anders bei der morphologischen Prüfung. Hier erhalten wir feste Bilder, die wir in Form des Originalpräparates aufbewahren können, um sie zu gelegener Zeit mit den darauffolgenden Bildern zu vergleichen.

Bei der sorgfältigen Prüfung dieser Verhältnisse stellte sich nun die beachtenswerte Tatsache heraus, daß durchaus nicht etwa die betreffenden veränderten Bakterien, die nach der Herauszüchtung aus dem Tierkörper eine neue Gestalt gewonnen hatten, dieselbe nun dauernd beibehielten, sondern es zeigte sich, daß diese Gestalt sich eigentlich bei den meisten in den Kulturen noch weiterhin veränderte, und zwar meistens in fortschreitender Richtung, d. h. nachdem einmal die lange typische Gestalt des Diphtheriebacillus zum Teil abhanden gekommen war, veränderten sich die Bakterien immer weiter bis zu äußerst kurzen, fast kokkenartigen Gebilden. Manchmal erfolgt dann noch ein mehr oder minder großer Rückschlag. Aber auch die Rückschläge in umgekehrter Richtung wieder zum Typischen hin wurden nicht vermißt. Besonders wenn die Veränderung nach der Herauszüchtung noch nicht sehr stark gewesen war. So war es nach den ersten Tierpassagen fast die Regel, daß der betreffende Stamm in kürzerer oder längerer Zeit die alte Form wieder annahm, seltener geschah es, daß sogar weit veränderte Bakterien wieder Rückschläge zeigten. Als Beispiel werden wir weiter unten die Stämme 117 VI a 1 und a 2 kennen lernen. Ganz besonders merkwürdig ist nun jedoch, wie gerade auch wieder die beiden letztgenannten Stämme zeigen, daß die Gestalt eines echten Diphtheriebacillus zurückgewonnen werden kann, selbst wenn das Bakterium sonst sehr stark verändert ist. Der Bacillus 117 M VI a 1 war anfangs in keinem Punkt typisch und wurde es später in der Form; der Bacillus M VI a 2 ist anfangs nur in $\frac{1}{2}$ Punkt noch typisch, später in $2\frac{1}{2}$. Er gewann zurück die Form und das Wachstum im tiefen Agarstich. Angesichts solcher Veränderungen ist natürlich daran zu denken, daß eine mehr oder minder vollkommene Rückkehr der Bakterien zu ihrem Ausgangspunkt, selbst wenn sie sehr stark verändert sind, durchaus möglich ist; wir werden weiter unten in dem theoretischen Teil uns noch genauer damit beschäftigen müssen.

Ich möchte zunächst eine Liste der Bakterien, die ich hier besprechen will, geben und bei der Gelegenheit die Formel für dieselben (nach den oben gegebenen Grundsätzen) hinzusetzen.

	Atypisch in	Typisch in . . . Punkten
117 VIII	—	5
117 M I 2	m n $s\frac{1}{2}$ v	$1\frac{1}{2}$
117 M IV b 2	nicht durchgeprüft, da vorher eingegangen	
117 M IV b 3	m n $\frac{1}{2}$ s v	$1\frac{1}{2}$
117 M IV c 4	m n $\frac{1}{2}$ v	$2\frac{1}{2}$
117 M IV h 2	—	—
117 M IV h 2 α	m n $\frac{1}{2}$ s v	$1\frac{1}{2}$
117 M IV h 2 β	m n $\frac{1}{2}$ s v	$1\frac{1}{2}$
117 M IV h 4	anf. n s v, später noch n $\frac{1}{2}$ m	anf. 2, später $1\frac{1}{2}$
117 M V c 1	anf. n $\frac{1}{2}$ s v, später noch m $\frac{1}{2}$	anf. $1\frac{1}{2}$, später $2\frac{1}{2}$
117 M VI a 1	anf. m n $t\frac{1}{2}$ s v, später n $t\frac{1}{2}$ s v	anf. $\frac{1}{2}$, später $1\frac{1}{2}$
117 M VI a 2	anf. m n $\frac{1}{2}$ t s v, später n $\frac{1}{2}$ $t\frac{1}{2}$ s v	anf. $1\frac{1}{2}$, später $2\frac{1}{2}$
131 VIII	—	5
131 M IV a 3	anf. n s v, später noch m	anf. 2, später 1
131 M IV a 4	m n s v	1

Sämtliche Photographieen sind mit derselben Vergrößerung angefertigt: Zeiß, Immersion 2 mm, Projektionsokular 4, Balgauszug 50 cm. Alle Abbildungen sind also untereinander vergleichbar.

Der Stamm 117 VIII ist ein durchaus typischer Diphtheriebacillus von langer, eleganter Gestalt mit einzelnen kolbenförmigen Anschwellungen und Lagerung in den bekannten V- und T-Formen. Der Stamm 117 M IV b 2 erweist sich wohl als echter Diphtheriebacillus durch die Degenerationskolben. Er ist avirulent und besaß überdies sehr schlechtes Wachstum, so daß er knapp nach der Prüfung ausstarb. Bei ihm ist außerdem bemerkenswert, daß sich im mikroskopischen Präparat ziemlich häufig echte Verzweigungen nachweisen ließen. Der Ausgangsstamm 117 VIII hat nie dieselbe Erscheinung gezeigt, trotzdem natürlich nach der Beobachtung bei M IV b 2 eifrigst danach gesucht wurde. Eine Verzweigung ist in der Fig. 2 auch zu bemerken. Sehr interessant ist nun auch 117 M IV b 3; ebenfalls avirulent zeigte er bei der zweiten Züchtung ganz eigentümlich starre Formen, die an den Heubacillus erinnern. Bei der Herauszüchtung damals dachte ich zunächst an eine Verunreinigung, jedoch fehlte dem Bacillus die Fähigkeit, das Löffler-Serum zu verflüssigen und außerdem zeigt sein fernerer morphologisches Verhalten, das wir an der Fig. 4 beobachten können, daß er wohl zum Formenkreis des Diphtheriebacillus gehört. Die Fig. 4 zeigt die eigentümlichen Kolben, wie man sie nur bei unserer Gruppe findet (links unten). Sonst ist die Form und Lagerung hier durchaus typisch zu nennen. Die Neisser-Färbung, Fig. 5, ist auch abweichend. Hier sind teilweise die Bacillen ganz von den Körperchen erfüllt, zum anderen Teil sind die Körnchen außerordentlich groß und verunstaltet. Der nächste Stamm 117 M IV c 4 ist absolut diphtheroid, äußerst kurz und plump. Außerdem begegnen wir hier im stärksten Maße einer Eigenschaft, die wir oben schon erwähnt haben, dem außerordentlich stark klumpenden Verhalten. Die Neisser-Färbung des Bacillus ist wieder voll ausfüllend.

Sehr interessant ist nun der folgende Stamm 117 M IV h 2. In der 1. Züchtung einige, noch einigermaßen typisch erscheinende, aber auch viele kurze und plumpe, wird er in der 2. Züchtung außerordentlich kurz und von eigentümlicher Gestalt. Bei der Weiterzüchtung spaltet sich nun dieses Bakterium in zwei Linien. Die erste, h 2 α genannt, zeigt zunächst ganz kleine, feste, kokkenförmige Stäbchen, die sich im Laufe eines Jahres jedoch wieder etwas verlängerten, die andere Linie, h 2 β , dagegen zeigt zunächst neben sehr kleinen plumpen auch längere, einigermaßen typische Stäbchen. Einige von diesen besaßen jedoch sonderbare spindelförmige Auftreibungen. Nach einem Jahr ist auch dieser Bacillus wieder verändert, und zwar zu sehr dicken, plumpen und stark aneinander klumpenden, kleinen Stäbchen (Fig. 12). Außerordentlich stark sind nun die Wandlungen, die der Bacillus 117 M IV h 4 durchmachte. Bei der 1. Züchtung Stäbchen und Degenerationsformen, aber bereits klumpend, bei der 2. Züchtung die Stäbchen alle mittellang bis kurz, auch viel plumper dabei und bei der 3. Züchtung zu sehr kleinen, fast kokkenförmigen Gebilden verändert. Die nächsten Aufnahmen, No. 16–20, verdienen nun besonderes Interesse. Der Bacillus 117 M V c 1 bildet bereits bei der 1. Züchtung große Degenerationsformen, die auch bei der 2. Züchtung und nach einem Jahre nicht fehlen, nur daß sie hier zu dicken Aufblasungen und Klumpen, wie man sie sonst wohl in Pestkulturen sieht, geworden sind. Es ist wohl zu bemerken, daß alle die abgebildeten Formen nach 24-stündigem

Wachstum auf Loeffler-Serum gewonnen worden sind. Ja, wenn sich solche Degenerationsformen zeigten, z. B. bei No. 19, so wurde der Bacillus zuerst mehrere Male umgezüchtet und dann nochmals untersucht. Es handelt sich also nicht etwa um alte Kulturen. Sind schon die Fuchsinfärbungen No. 16, 17 und 19 höchst interessant, so sind es noch mehr die Neisser-Färbungen No. 18 und 20. Neben einer großen Anzahl von Bakterien, die in der Gegenfarbe erschienen, hat eine nicht minder große Anzahl, und bezeichnenderweise gerade die Degenerationskolben, die Neisser-Färbung in stärkstem Maße beibehalten, so daß außerordentlich groteske Formen dicke, solide Keulen und aufgeblähte Körner zu sehen sind.

Nunmehr gelangen wir zu den beiden interessantesten Stämmen der ganzen Versuchsreihe, 117 M VI a 1 u. 2, Abkömmlingen von 117 M V a 2. M VI a 1 hatte bereits bei der 1. Züchtung starke Abweichungen von der typischen Gestalt; auch die 2. Züchtung verhält sich gleich; die Lagerung hat zwar ab und zu V-Form, aber die Form ist plump, bei einzelnen stark aufgetrieben. Nach einem Jahr zeigt das Bakterium, wie Fig. 23 zeigt, einen fast vollkommenen Rückschlag. Zwar sind die Formen zum Teil etwas verzerrt, aber doch läßt sich aus dem Präparate ohne weiteres die Diagnose Diphtherie stellen. Noch krasser ist die Erscheinung bei dem Schwesterstamm 117 M VI a 2, Figg. 24—26. Er ist bei der 1. Herauszüchtung mittellang, plump, pseudoartig gelagert, bei der 2. Züchtung ist das pseudoartige Aussehen noch viel deutlicher; man könnte den Bacillus für das Schulbeispiel eines Diphtheroiden erklären, und nach einem Jahr sind die langen, schlanken Formen mit typischer Lagerung wieder in der Mehrzahl.

Fig. 27 zeigt den Stamm 131 VIII, der, wenn auch nicht so lang wie 117, ein durchaus typischer Bacillus genannt werden muß. Sehr viel Interessantes bieten uns nun auf der letzten Tafel 131 M IV a 3 und a 4. 131 M IV a 3 besteht bei der 1. Züchtung aus langen typischen und allen Uebergängen bis zum kurzen atypischen Individuum. In der 2. Züchtung ist die übergroße Anzahl der Individuen ganz kurz; nach 1 Jahr ist der Bacillus wieder bedeutend länger geworden, entfernt sich aber durch seine Plumpheit, seine Lagerung und seine starke Klumpung weit von den typischen Diphtheriebacillen. Dasselbe zeigt das Neisser-Farbbild 31; und zwar zeigt sich die Art, die wir schon öfter antrafen, daß die Polkörner einen großen Teil der Bakterien voll ausfüllend auftreten. Das letzte angeführte Bakterium 131 M IV a 4 bietet nun ganz besondere Eigentümlichkeiten. Bei der 1. Herauszüchtung zeigt es einige noch ziemlich typische Bakterien (Fig. 32 unten und rechts oben); die große Mehrzahl jedoch ist dann verunstaltet, und zwar durch die Bildung von spindel- und kürbisförmigen Auftreibungen. Damit nicht genug, finden sich auch noch im Präparate eine Menge Schatten, die sich dadurch auszeichnen, daß sie nur sehr schwach färbbar sind. Die in Fig. 32 ebenfalls sichtbaren Schatten sind solche schlecht färbbaren Individuen, und nicht etwa in einer anderen Lichtebeine gelegene Bakterien. Die 2. Züchtung des Bakteriums brachte eine außerordentliche Verkürzung fast bis zur Kokkenform, sodann schlug jedoch die Form etwas zurück, wie die Figuren 32—36 zeigen. Die Schatten, die ich schon erwähnte, traten mehr zurück. Anfangs hielt ich sie für Verunreinigungen und wurde in diesem noch dadurch bestärkt, daß sie sich bei der Gram-Färbung negativ verhielten, jedoch alle Versuche, diese versehentliche Unreinig-

keit auszumerzen, blieben erfolglos, so daß wir zu der Annahme gezwungen sind, daß diese merkwürdigen Formen immer aus den anderen vollkräftigen in jeder Kultur entstehen. Im übrigen waren sonst alle beobachteten Formen grampositiv. Zu bemerken ist noch, daß der *Bacillus* 131 M IV a 4 sich immer Neisser-negativ verhielt.

Besonders abweichende und interessante Beobachtungen konnten wir also außer bei diesem letzten *Bacillus* bei einigen Neisser-Färbungen machen. Ich verweise noch einmal auf die Figuren 5, 18, 20 und 31. Ich möchte hier daran erinnern, daß solche groteske Formen bereits einmal von Dale gemeinsam mit Trautmann beobachtet worden sind. Auch diese Autoren konnten feststellen, daß die Neisser-Körperchen dazu befähigt sind, ganz außerordentlich verschiedene und verzerrte Formen anzunehmen. Einzelne von meinen Figuren ähneln außerordentlich den von Trautmann und Dale in ihren Veröffentlichungen gegebenen. Ich möchte auch bemerken, daß genannte Autoren ebenfalls bemerkten, daß Teile der Diphtheriebacillen gramnegativ werden konnten. Der Hauptunterschied zwischen den zitierten Befunden und den meinigen besteht darin, daß jene Beobachtungen an virulenten Diphtheriebacillen gemacht wurden, während die hier in Frage kommenden Bakterien ihre Virulenz verloren hatten. Deutlicher als alle anderen Beobachtungen, die in dieser Arbeit zusammengefaßt sind, zeigen gerade diese merkwürdigen Bilder, daß der Tierkörper, den wir auf die Bakterien haben einwirken lassen, einen merkwürdigen Einfluß auf das innere Gefüge der Bakterien besitzt. Wir sehen, er kann nicht nur den Bakterien einzelne Lebensäußerungen, wie Virulenz und Vergärungsmöglichkeit, nehmen, er kann sie nicht nur dazu zwingen, ihre Gestalt im ganzen Umriß zu verändern, sondern er bringt sie auch dazu, daß in ihrem inneren Gefüge, in ihrem chemischen Aufbau, kurz, in der morphologischen und biologischen Struktur der ganzen Zelle Veränderungen hervorgerufen werden. Wie diese ganzen Veränderungen zu bewerten sind, davon wird weiter unten in dem theoretischen Teil abzuhandeln sein.

Zunächst noch ein Wort über die morphologische Umgestaltung. Die beigegebenen Figuren zeigen deutlich, daß nicht etwa nach der Herauszüchtung aus den Tierkörpern nun die Umwandlung der einzelnen Bakterien vollkommen abgeschlossen ist, sondern jede Veränderung, die überhaupt noch möglich ist, sehen wir eintreten, und zwar: 1) sofortiger Rückschlag in den vollen Typus, 2) Beharren auf der einmal gegebenen Form, 3) Weiterentwicklung zum Atypus hin, 4) zunächst Weiterentwicklung und in späterer Zeit sodann wieder vollkommener oder unvollkommener Rückschlag zu dem Typus hin.

Gewiß ist gerade bei diesen Beobachtungen der Einwurf zu erwarten, daß die herausgezüchteten Kolonien nun wieder keine „reine Linie“ gewesen seien, sondern vielleicht aus zwei oder mehreren Keimen ihren Ursprung genommen hätten, von denen der eine mehr, der andere weniger verändert gewesen wäre. Jedoch ist dem zu erwidern, daß erstens, wie schon bemerkt, die Kolonien der einigermaßen veränderten Bakterien außerordentlich spärlich auf der Platte erschienen und die Wachstumsstärke derselben auch wieder sehr gering gewesen ist, zweitens von mehreren verschiedenen Keimen in derselben Kolonie hätte dann auch sicher gleich bei der 1. Herauszüchtung gerade der vollkräftige unveränderte die Oberhand gewinnen müssen, die späteren Rückschläge wären also wenig verständlich. Sodann ist folgender Haupteinwand

zu machen: Warum behalten die vielleicht in einem Punkte teilweise oder ganz rückschlagenden im übrigen die gleichen Eigenschaften wie zu Anfang?

Gewiß ist diese Vermutung der unreinen Sekundärlinie hiermit nicht ganz abgewiesen, aber das Erzielen von reinen Kulturlinien lag ja auch nicht zu allererst in unserem Interesse, denn das Hauptziel unserer Untersuchung war ja die Feststellung der Veränderungen und die Festlegung, ob die Veränderungen in allen, oder nur in einigen Punkten erfolgten. Bei der hierzu notwendigen vielfältigen Prüfung wäre es unmöglich gewesen, auch noch von jedem sekundären Stamm verschiedene Linien in allen 5 Punkten genau zu untersuchen, und schließlich wäre die Züchtung von „reinen Linien“ bei einer großen Anzahl von Stämmen gar nicht möglich gewesen, da ja selbst die Erhaltung der Kultur oft so großen Schwierigkeiten begegnet ist. Bei dem schlechten Wachstum, sogar auf Loeffler-Serum, war z. B. auch das Aufkeimen von Kolonien auf Agar sehr wenig wahrscheinlich.

Die zusammenfassende Darstellung und Beurteilung der bisher gegebenen Beobachtungen soll weiter unten erfolgen. Zunächst müssen noch weitere Versuche folgen, und zwar

B. Umwandlungsversuche mittels in die Meerschweinchen-Bauchhöhle eingelegter Kollodiumsäckchen.

Nachdem die Einspritzungsmethode zur Umwandlung der Diphtheriebacillen die Ergebnisse gezeigt hatte, die in dem vorhergehenden Abschnitt geschildert sind, lag es nahe, dasselbe mit Verfahren zu versuchen, die die Gefahr einer täuschenden Verunreinigung vollkommen ausschlossen. Zu diesem Zwecke eigneten sich zwei Verfahren, das eine soll nur kurz erwähnt werden, da es keine Ergebnisse geliefert hat.

Es wurde in diesen Versuchen großen Meerschweinchen steril Blut aus dem Herzen genommen und zu gleichen Teilen in 2 sterile Röhrchen gebracht (je 3—4 ccm). Nach Absetzen des Blutkuchens wurde das eine Röhrchen mit dem zu prüfenden Stamme beimpft, das andere zur Kontrolle ohne Beimpfung gelassen und beide in den Blutschrank getan. Nach verschiedenen Zeiten wurden aus dieser Kultur in frischem Serum Ausstriche auf Loeffler-Platten gemacht, und zwar immer auf eine ganze Reihe, so daß immer einzelne Kolonien untersucht werden konnten.

Selbst wenn unsere Stämme 117 und 131 VIII in mehreren Passagen der Einwirkung des Serums ausgesetzt wurden, ließen sich keine verwandelten Kolonien finden. In dieser Hinsicht können wir also die Befunde Bernhards und Paneths nicht bestätigen, was vielleicht darin seine Erklärung finden mag, daß verschiedene Diphtheriestämme verschieden leicht umschlagen. Ich behalte mir vor, denselben Versuch mit bereits abgeschwächten echten Stämmen zu unternehmen, die sich aber noch typisch verhalten.

Das zweite Verfahren, das ebenfalls die Gefahr einer Verunreinigung ausschließt, war das der intraperitonealen Kollodiumsäckchen.

Um es gleich vorwegzunehmen: auch dieses ist in seinem Erfolge weit von denen der ersten Versuchsreihe entfernt, aber immerhin zeigt es einige beachtenswerte Tatsachen, die vielleicht einmal Anlaß zu wichtigeren Folgerungen werden können.

Mein Vorgehen war folgendes:

Herstellung des Kollodiumsäckchens.

Von einer Glasröhre mit einer lichten Weite von etwa 3—4 mm wurde ein Stückchen der beigegebenen Größe und Gestalt abgeschmolzen.

Durch Eintauchen des offenen Endes in Kollodiumlösung wurde dasselbe mit einer dünnen Kollodiumhaut überzogen. Sodann wurde die Spitze des Gläschens abgebrochen und das Innere mit einer Spritze vorsichtig mit Bouillon gefüllt. Sodann wurde das Gläschen an einem Faden in Bouillon aufgehängt und das Ganze sterilisiert.



Danach wurde die Bouillon in dem Gläschen mit einer Platinnadel durch die Spitzenöffnung beimpft und letztere mit sterilem Siegelack sofort geschlossen. Nachdem letzterer noch einen Kollodiumüberzug erhalten hatte, wurde das Gläschen mit Aether narkotisierten Meer-schweinchen in die Bauchhöhle versenkt und die Wunde mit Etagnennaht geschlossen.

Daß durch das Kollodiumhäutchen wirklich ein Säfteaustausch stattfand, ist daran ersichtlich, daß mehrere Tiere an Diphtherievergiftung eingingen (Sektionsbefund typisch), obwohl das Kollodiumhäutchen und Inhalt des Gläschens unversehrt waren.

Starben die Tiere nicht, so wurden sie nach einigen Tagen getötet. Nach Oeffnung der Bauchhöhle fand sich dann regelmäßig der Fremdkörper vom Netz und den Gedärmen eng umwachsen. Nach vorsichtigem Herausziehen wurde sodann mit steriler Spritze das Kollodiumhäutchen durchstoßen und der Inhalt aufgesogen.

Ein Tropfen wurde hierauf auf einem Satze Loeffler-Platten ausgestrichen. Es wuchs immer eine sehr große Anzahl Kolonien. Einige wurden abgestochen und in der üblichen Weise durchgeprüft.

Das Ergebnis dieser Prüfung ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Die Bezeichnung der Stämme ist nach denselben Grundsätzen wie oben erfolgt, nur steht hier P statt M.

Bei 117 P I folgen noch die Buchstaben A, B und C, der Stamm 117 VIII wurde nämlich beim ersten Versuch gleichzeitig 3 Meer-schweinchen intraperitoneal gegeben.

Die herausgezüchteten Stämme zeigten in der Form weiter nichts Besonderes, wohl aber war die Färbbarkeit bei einer ganzen Reihe ziemlich stark verändert, eine ganze Reihe zeigte ganz geringe, einige fast gar keine Neisser-Färbung. Jedoch pflegte dies bei späteren Züchtungen zu verschwinden, und war sie dann in der Folgezeit immer gut ausgebildet.

Der tiefe Agarstich war bis auf eine Ausnahme typisch. Auch bei dieser Ausnahme fiel die Nachprüfung typisch aus.

Bei der Prüfung im Thielschen Nährboden wurden sowohl bei 117 wie bei 131 einige Stämme gefunden, die etwas später röteten (3—5 Tage!), bei einer ganzen Reihe der 117er konnte jedoch wieder das eigentümliche Verhalten bemerkt werden, daß nach einigen Passagen plötzlich sich eine verstärkte Vergärfähigkeit zeigte (24 Stunden hr. tr.). Das merkwürdigste und bisher noch nicht beobachtete Verhalten zeigten jedoch eine ganze Reihe Stämme bei der Prüfung der Virulenz.

Wie aus der nachstehenden Tabelle VI (s. auch Tab. IV) zu ersehen

Tabelle VI. Intraperitonealstämme 117.

Nummer der Stämme	Ab- stammung	a) Aussehen (Form und Lagerung)		b) Neisser-Färbung	c) Wachs- tum im tiefen Agarstich	d) Verhalten im Thielschen Nährboden	e) Virulenz	
		bei der 1. Züchtung	bei späteren Züchtungen				Oese	Oese
							1/10	1/100
intrakutan								
117 P I A 1	117 VIII	l. s.	l. s	fast 0, später ++	++	5 Tage hr. tr.	N	.
117 P I A 2	"	"	"	+ später ++	++	48 St. hr. tr.	N	.
117 P I A 3	"	"	"	± fast 0, später ++	++	10 T. mr. tr., später 48 St.	N	.
117 P I A 4	"	"	"	0 später ++	++	48 St. hr. tr.	N	.
117 P I A 5	"	"	"	fast 0, später ++	++	"	N	.
117 P I A 6	"	"	"	± atypisch, später ++	++	"	N	.
117 P I B 1	"	"	"	+	++	"	N	.
117 P I B 2	"	"	"	+	++	"	N	.
117 P I C 1	"	"	"	+	++	"	N	.
117 P II 1	117 P I A 3	"	"	+ atypisch, später ++	++	"	N	.
117 P III 1	117 P II 1	"	"	0 später ++	+	24 St. hr. tr.	N	.
117 P III 2	"	"	"	fast 0, später ++	+	"	N	.
117 P III 3	"	"	"	dgl.	± sp. ++	"	N	.
117 P III 4	"	"	"	"	++	"	†	N
117 P III 5	"	"	"	± später ++	+	"	†	N
117 P III 6	"	"	"	+	+	"	N	.
117 P IV a 1	117 P III 4	"	"	+	+	"	†	N
117 P IV a 2	"	"	"	+	+	"	†	N
117 P IV a 3	"	"	"	fast 0, später +	+	"	†	N
117 P IV a 4	"	"	"	++	+	"	†	N
117 P IV a 5	"	"	"	++	++	"	†	N
117 P IV a 6	"	"	"	+	++	"	†	N
117 P IV b 1	117 P III 5	"	"	+	+	"	†	N
117 P IV b 2	"	"	"	+	+	48 St. hr. tr.	N	.
117 P IV b 3	"	"	"	+	++	24 St. hr. tr.	N	.
117 P IV b 4	"	"	"	+	+	48 St. hr. tr.	N	.
117 P V a 1	117 P IV a 1	"	"	++	++	24 St. hr. tr.	†	N
117 P V a 2	"	"	"	++	++	"	†	N
117 P V a 3	"	"	"	+	++	"	†	N
117 P V a 4	"	"	"	++	++	"	†	N

ist, war die Virulenz des Stammes 117 so, daß $\frac{1}{10}$ Oese, intrakutan injiziert, eine große Nekrose (N) hervorrief.

Nach einigen Bauchhöhlenpassagen zeigte sich nun plötzlich eine starke Steigerung der Virulenz, so daß $\frac{1}{10}$ Oese den Tod des Versuchstieres und $\frac{1}{100}$ Oese noch eine ziemlich große Nekrose hervorrief.

Tabelle VII. Intraperitonealstämmen 131.

Nummer der Stämme	Ab- stammung	a) Aussehen (Form und Lagerung)		b) Neisser-Färbung	c) Wachs- tum im tiefen Agarstich	d) Verhalten im Thielsehen Nährboden	e) Virulenz	
		bei der 1. Züchtung	bei späteren Züchtungen				Oese	Oese
							$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{100}$
							intrakutan	
131 P I 1	131 VIII	l. s.	l. s.	+	+	48 St. hr. tr.	N	.
131 P I 2	"	"	"	+	+	"	N	.
131 P I 3	"	"	"	+	+	"	N	.
131 P I 4	"	"	"	++	+	"	N	.
131 P I 5	"	"	"	+	+	5 Tage hr. tr.	N	.
131 P I 6	"	"	"	++	+	48 St. hr. tr.	N	.
131 P II a 1	131 P I 6	"	"	± später +	++	"	N	.
131 P II a 2	"	"	"	+	++	3 Tage hr. tr.	N	.
131 P II a 3	"	"	"	± später +	++	"	N	.
131 P II a 4	"	"	"	± " +	++	"	N	.
131 P II a 5	"	"	"	0 " +	++	"	N	.
131 P II b 1	131 P I 5	"	"	0 " +	++	48 St. hr. tr.	N	.
131 P II b 2	"	"	"	± " +	++	"	N	.
131 P II b 3	"	"	"	0 " +	++	"	N	.

Bemerkenswerterweise bewirkten alle diese Stämme auch die Rötung und Trübung des Thielschen Nährbodens nach 24 Stunden.

Bei 131 konnte Ähnliches nicht beobachtet werden, so daß ich die Frage offen lasse, ob es sich hier um eine künstliche Virulenzsteigerung oder um eine zufällige Veränderung handelt. Immerhin verdient diese Beobachtung weiter verfolgt zu werden, da künstliche Steigerung der Virulenz bei Diphtheriebacillen bisher noch nie gelungen ist.

C. Zusammenfassende Darstellung der bisherigen Beobachtungen, verglichen mit dem Ausfall von Ablenkungsversuchen.

Die in den vorhergehenden Abschnitten gegebenen Erläuterungen zeigten uns, daß sämtliche 5 Haupteigenschaften der Diphtheriebacillen durch den Tierkörper in wechselndem Spiel abgeschwächt und unterdrückt, vielleicht auch gesteigert werden können. Was das letztere angeht, so sind allerdings die erhobenen Befunde noch so geringfügig, daß sie zu weiterer Verwertung nicht geeignet erscheinen. Anders jedoch mit dem „Verlust“ der Eigenschaften. Er ist genügend deutlich und in allen Stufen genau feststellbar, so daß es sich lohnt, die erzielten Umstimmungen nunmehr in übersichtlicher Weise zusammenzustellen. Im Anschluß daran soll dann noch eine letzte Versuchsreihe gezeigt werden, in der mit Hilfe von Serumreaktionen versucht wurde, die Verwandtschaft der einzelnen Stämme zu untersuchen.

Tabelle VIII.

Stämme 117	A	B	C					D	E					F			
	Anzahl der Stämme	davon ganz typisch	Abweichend, dauernd oder zeitweise, in . . . Punkten					Voll- ständig rück- schla- gend	Dauernd verändert in . . . Punkten					Teil- weise rück- schla- gend			
			(Ge- samt- zahl	1	2	3	4		5	hier- von virul.	1	2	3		4	5	hier- von virul.
MI	2	1	1	.	.	1 (av.)	.	0	1	.	.	1 (av.)	.	0			
MII	8	4	4	3	.	1	.	4	2	2	.	.	.	2			
MIII	16	4	12	8	3	.	1 (av.)	11	2	10	6+3	.	1 (av.)	9			
MIV	27	8	19	1	.	6 (av.)	10 (av.)	2 (av.)	0	19	1	.	6 (av.)	10 (av.)	2 (av.)	1	0
MV	7	0	7	2	.	1 (av.)	1 (av.)	3 (av.)	2	5	.	.	1 (av.)	1 (av.)	3 (av.)	0	0
MVI	2	0	2	2 (av.)	0	2	.	.	.	2 (av.)	.	0	2
Summe	62	17	45	14	3	8	13	7	18	39	12	0	7	15	5	12	5

38

Unter 62 Stämmen sind also:
ganz typisch 17
abweichend 45

Unter den 45 abweichenden sind:
virulent 18
avirulent 27

Unter den 45 abweichenden sind ferner:
dauernd verändert 39
vollständ. rückschlagend 6

Unter den 39 dauernd veränderten sind:
ganz unveränderliche 34
teilweise rückschlagend 5

34

Unter den 18 virulenten Stämmen der Tabelle C sind:
in 1 Punkte abweichend 14, und zwar: 1mal n
4mal n?
2mal n rückschlagend
2mal n?
4mal t?

in 2 Punkten abweichend 3, und zwar: 1mal t rückschlagend
1mal n? t?, später n?

in 3 Punkten abweichend 1, und zwar: 1mal n? t?, später t?
1mal n? t?, später n?
Die 12 virulenten der dauernd veränderten (E) sind entsprechend den Rückschlägen alle
nur in 1 Punkte abweichend.

Unter 62 Stämmen fanden sich: 17 ganz typische
38 Uebergangsformen
7 (5) vollkommen diphtheroide.

Tabelle IX.

Stämme 131	A		B	C					D	E					F			
	Anzahl der Stämme	davon ganz typisch	2	Abweichend, dauernd oder zeitweise, in . . . Punkten					Voll- ständig rück- schla- gend	Dauernd verändert in . . . Punkten					Teil- weise rück- schla- gend			
				(Ge- samt- zahl	1	2	3	4		5	hiervon virulent	(ge- samt- zahl	1	2		3	4	5
MI	2	2	0	0
MII	7	3	4	3	1	.	.	.	4	0
MIII	8	5	3	1	.	.	.	2 (av.)	1 (schwach)	0	3	1	sehr schwach, virulent	.	2 (av.)	.	1 (schwach)	0
MIV	7	0	7	.	1 (av.)	1 (av.)	3 (av.)	2 (av.)	0	7	.	1 (av.)	1 (av.)	3 (av.)	2 (av.)	.	.	0
Summe	24	10	14	4	2	1	5	2	5	4	10	1	1	1	5	2	1	0
12																		

Unter 24 Stämmen sind also:

ganz typisch
abweichend10
14

(1 schwach virulent, 13)

Unter den 13 abweichenden sind:

virulent
avirulent4
9

Unter den 14 abweichenden sind ferner:

dauernd verändert
vollständ. rückschlagend
teilweise rückschlagend10
4
0Von den dauernd virulenten Stämmen der Tabelle C sind
in 1 Punkte abweichend 3, und zwar1mal n/,
1mal nin 2 Punkten abweichend 1, und zwar
1mal m
m n.Dieselben schlugen alle zurück, so daß sich in Tabelle E kein
dauernd veränderter virulenter mehr findet (der eine, M III, der
schwach virulent ist, ist nur in diesem Punkte atypisch).

Unter den 24 Stämmen fanden sich:

10 ganz typische,
12 Uebergangsformen,
2 vollkommen diphtheroide.

Die Fragen, die uns in diesem Abschnitt nun des näheren beschäftigen, sind folgende:

- I. Welcher Art sind die erzielten Veränderungen?
- II. In welcher Weise vollzog sich der Wechsel der Eigenschaften?
- III. Sind die erzielten neuen Eigenschaften alle erblich oder kommen Rückschläge vor?

Wie wir sehen werden, ergibt sich mit der Beantwortung dieser drei Fragen auch noch die weitere, nämlich ob die so stark veränderten Bakterien wirklich die Abkömmlinge der eingespritzten volltypischen Diphtheriebacillen sind. Wie wir sehen werden, schließen sich in dieser Beziehung die einzelnen Befunde zu einem harmonischen Beweisring zusammen, der zusammen mit den oben schon erwähnten Punkten uns die wichtige Gewißheit gibt, daß diese Abstammungsverhältnisse wirklich vorliegen.

Die Besprechung der dritten Frage wird in der Hauptsache in dem letzten Hauptteil erfolgen. Um unnütze Wiederholungen zu vermeiden, wird an dieser Stelle also nur das unbedingt Notwendige gesagt werden.

Am Beginn dieser Schrift ist dargelegt worden, daß das Hauptziel der heutigen Forschung über Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen dahin geht, ob es möglich ist, festzustellen, die einen in die anderen überzuführen. Dies ist uns in den oben gegebenen Versuchsreihen ohne Zweifel gelungen. Die Ausgangsstämme 117 VIII und 131 VIII waren reine Linien von typischen, in allen fünf Punkten voll genügenden Diphtheriebacillen, die auch nie im Laufe einer langen Beobachtungszeit Veränderungen ihres Verhaltens zeigten. Aus diesen wurden, nicht gerechnet die zahlreichen Zwischenformen, auf die wir weiter unten ausführlicher zu sprechen kommen werden, $6+2=8$ in allen fünf Punkten veränderte Stämme im Verlaufe von sechs bzw. vier Meerschweinchenpassagen gewonnen.

So viel steht also fest: es ist eine **vollkommene Umwandlung der fünf entscheidenden Artmerkmale möglich.**

Die zweite Frage nach dem „Wie“ der Umwandlung umschließt nun wieder zwei neue Fragen:

- a) Gehen die betreffenden Verwandlungen ganz plötzlich, stoßweise oder langsam vor sich?
- b) Wurden alle Bakterienzellen oder nur einzelne von der Verwandlung betroffen?

Natürlich können wir hier, wie bei jedem biologischen Versuche, die einzelnen Stadien nicht alle beobachten, wir können nur aus den herausgegriffenen Stichproben uns ein ungefähres Bild des Verlaufes zurechtlegen.

Schon bei der oberflächlichen Betrachtung der Tabellen IV und V fällt auf, daß, je weiter wir in den Reihen heruntergehen von den M I- zu den M II-Stämmen usw., desto häufiger werden die Veränderungen, desto bedeutender ist die allgemeine Umwandlung.

Diese, mit den fortgesetzten Meerschweinchenpassagen ständig zunehmenden Veränderungen sind nun an den Tabellen VIII und IX deutlich zu erkennen. In diesen Tabellen sind nach der Reihenfolge der M I, M II usw. die Gesamtzahl der Stämme (A), die typischen (B), die überhaupt abweichenden (C), die vollständig rückschlagenden (D), die

dauernd verwandelten (E) und die teilweise rückschlagenden (F) eingezeichnet.

Sicher würde das Gesetzmäßige des Ablaufes noch besser zum Ausdruck kommen, wenn es möglich gewesen wäre, nach der ersten Passage alle hervorsprossenden Kolonien zu untersuchen. Das war wegen der Menge unmöglich; erst von der dritten M-Passage ab war die Zahl der aufsprießenden Kolonien so klein, daß sie alle untersucht werden konnten.

Aber selbst bei Vernachlässigung dieses Nachteiles ist der Ablauf durchaus eindeutig; wie an den Kolonien A und B zu sehen ist, wird der Anteil der ganz typischen an der Gesamtzahl immer geringer. Bei 117 M I und 117 M II beträgt er die Hälfte (ihr wirkliches Verhältnis war viel schlechter!). Bei M III ein Viertel, bei M IV etwa ebensoviel und bei M V und M VII schließlich 0. Die dauernd veränderten (E) nehmen umgekehrt in der Reihenfolge von oben nach unten immer größere Teile der Gesamtzahl ein.

Bei M II ein Viertel, bei M III fast zwei Drittel, bei M IV über zwei Drittel, bei M V fünf Siebentel und M IV die ganze Zahl.

Etwas rascher, jedoch in derselben Weise, verlief der Umschlag bei 131.

Tabelle X.
Verteilung der avirulenten und virulenten Formen auf die verschiedenen M-Serien.

	Avirulente	Virulente	Zusammen
117 M I	1	1	2
117 M II	0	8	8
117 M III	1	15	16
117 M IV	18	9	27
117 M V	5	2	7
117 M VI	2	0	2
Summe	27	35	62

	Avirulente	Virulente	Zusammen
131 M I	0	2	2
131 M II	0	7	7
131 M III	2	6	8
131 M IV	7	0	7
Summe	9	15	24

Den langsamen Abbau der einzelnen Eigenschaften können wir auch bei Berücksichtigung der Anzahl der atypischen Punkte beobachten. Wenn wir die Tabellen in der Wagerechten betrachten, sehen wir, daß die Verwandlungen in 3 und mehr Punkten fast ausschließlich nach der 3. M-Passage auftreten.

Das Gleiche zeigt die obige Tabelle X, in der die M I- und M II-Stämme nur nach der Virulenz und Avirulenz gesondert sind. Auch hier steigt die Verhältniszahl der avirulenten mit der Zahl der Passagen, während die Zahl der Virulenten bei der 3. bzw. 4. Passage bis auf 0 sinkt.

Noch deutlicher findet jedoch der allmähliche Abbau der Eigenschaften seinen Ausdruck, wenn wir nur die Stämme berücksichtigen, die wieder für weitere Einspritzungen benutzt worden sind. Es konnten ja natürlich nicht alle wieder in ein Meerschweinchen eingespritzt werden.

In den folgenden beiden Stammbäumen von 117 und 131 (Tabelle XI und XII) sind also nur die wieder eingespritzten Stämme und sämtliche Endstämme eingezeichnet. Die kleinen eingeklammerten Zahlen unter der Stammesbezeichnung bedeuten immer die Zahl der Punkte, in denen der Stamm sich noch typisch verhält.

Zunächst möchte ich darauf hinweisen, daß ich zu weiteren Einspritzungen immer die Stämme gewählt habe, die sich auch nach der

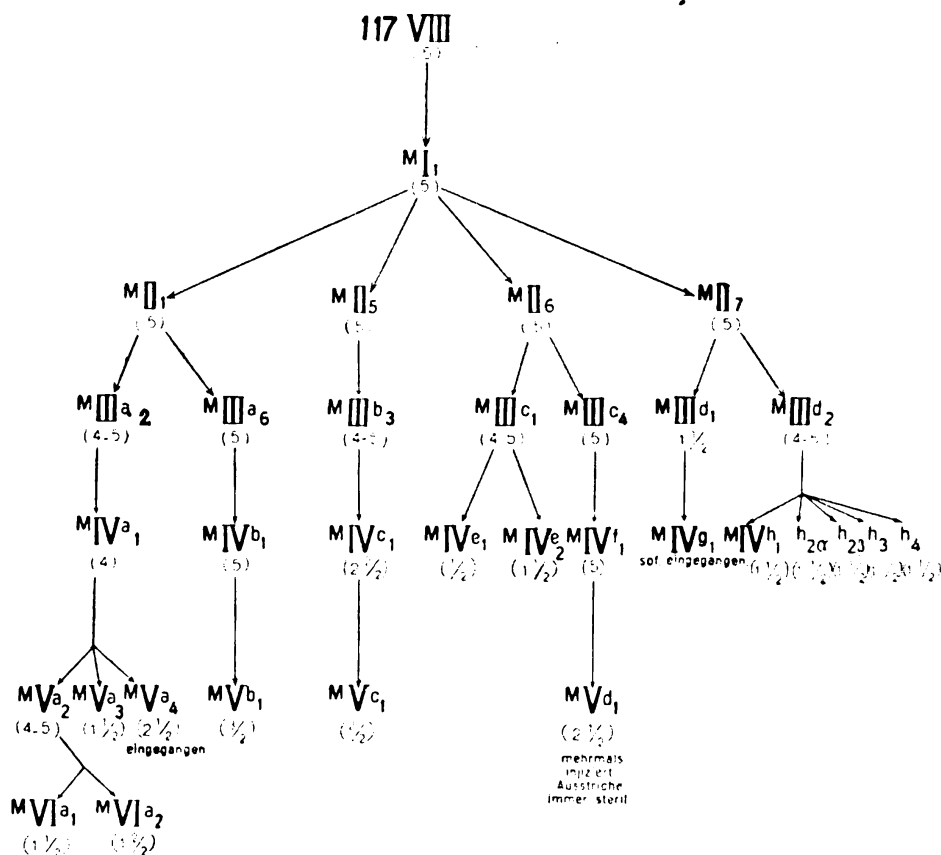


Tabelle XI.

Herauszüchtung aus den Meerschweinchen ganz oder zum großen Teil typisch verhielten. Auf diese Weise ist es gelungen, jeden Bacillus so zu verwandeln, daß er in den meisten Punkten atypisch geworden ist. Wenn wir die Endglieder in den Reihen M IV, M V und M VI betrachten, so finden wir außer 131 M IV c 2 keinen einzigen mehr, der sich in mehr als 2 ganzen Punkten noch typisch verhält.

Der genannte 131 M IV c 2 wurde mehrere Male Meerschweinchen eingespritzt, ohne daß es gelungen wäre, neue Stämme herauszuzüchten. Die Platten blieben keimfrei.

Festzuhalten ist aber als Ergebnis, daß es gelingt, durch mehrfache Meerschweinchenpassage einen volltypischen Diphtheriebacillus der Mehrzahl seiner Eigenschaften zu

entkleiden, so daß Formen entstehen, die man bisher für einer anderen Art angehörig betrachtete.

Die Umwandlung erfaßt also alle Abkömmlinge eines Stammes mehr oder weniger rasch, und darin liegt gleichzeitig noch eine Feststellung: sie erfolgt nach und nach.

Es ist klar, daß bei einer solchen allmählichen Umwandlung auch zahlreiche noch unvollkommen verwandelte anzutreffen sein müssen. Und tatsächlich ist dem auch so. Zahlenmäßig ist das sehr gut wieder bei der Tabelle VIII und IX festzustellen. Die letzte Wagerechte gibt uns da die einschlägigen Zahlen. Wie schon oben bemerkt, sind bei 117 von 62 Stämmen 17 ganz typisch geblieben. Wenn wir als Zwischenstufen diejenigen Stämme ansehen, die in 1—4 Punkten verändert waren, so sehen wir, daß diese Zahl 38 beträgt; wenn die Zahl derer, die in den

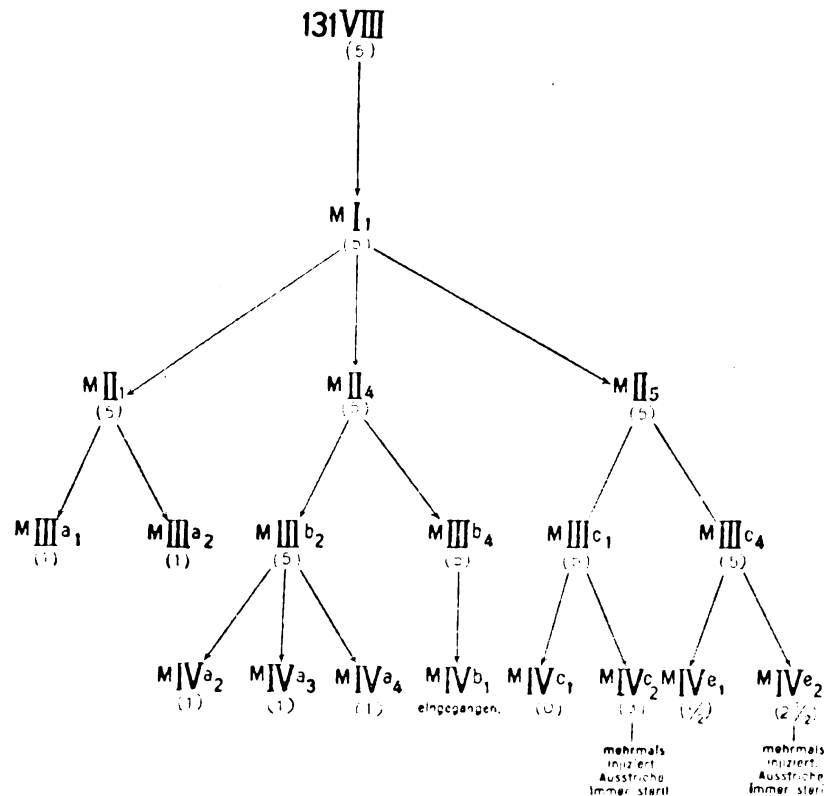


Tabelle XII.

Volltypus zurückschlagen, abgezogen wird, sind es 34. Die in 5 Punkten veränderten dagegen betragen 7, und davon bleiben 5 konstant.

Bei 131 sind die Zahlen:

0	Punkte verändert	10
1—4	„	12 (bzw. 8)
5	„	2

Sehr lehrreich ist auch hier ein Vergleich mit der folgenden Tabelle XIII, die eine Uebersicht der Stämme aus dem Jahre 1913 gibt. Von 44 Stämmen sind hier 19 voll typisch, 10 nehmen eine Mittelstellung ein und 15 sind in allen Punkten atypisch. Obwohl die Gesamtzahl der Stämme hier kleiner ist, fand ich doch 3mal mehr „Diphtheroide“ als z. B. bei den Stämmen 117. Auf die Bedeutung dieser Beobachtung werden wir später noch näher einzugehen haben.

Tabelle XIII.
Stämme 1913.

	A	B	C							D
	Anzahl der Stämme	davon ganz typisch	Dauernd abweichend in . . . Punkten							Rück- schla- gend
			Gesamt- zahl	1	2	3	4	5	hier- von virul.	
1. Echte Diphtheriebac.	24	19	5	4 (2 av.)	1 (av.)	.	.	.	2	0
2. Zweifelhafte	4	0	4	.	1 (av.)	2 (av.)	.	1 (av.)	0	0
3. Diphtheroide	16	0	16	.	.	.	2 (av.)	14 (av.)	0	0
Summe	44	19	25	4	2	2	2	15	2	0
				10						

Unter 44 Stämmen fanden sich:

ganz typisch 19
 Uebergangsformen 10
 vollkommene Diphtheroide 15

Wie wir gesehen haben, geschieht die Umwandlung der Stammes-eigentümlichkeiten allmählich, und da ergibt sich natürlich die Frage, welche Eigenschaft als lockerste zu betrachten ist, welche zuerst zu verschwinden pflegt, ob überhaupt eine gewisse Reihenfolge bei der Ausmerzung der Eigenschaften obwaltet.

Unsere früheren Versuche schienen darauf hinzuweisen, daß dem Diphtheriebacillus bei der Verwandlung zuerst immer die Virulenz abhanden käme. Doch die Beobachtungen der vorliegenden Arbeit lassen es glaubhaft erscheinen, daß auch zuerst die Neisser-Färbung verschwinden kann, ohne daß der Stamm avirulent wird. Ein Beispiel dafür ist der Stamm 117 M IV a 1. Auch bei anderen virulenten wurde die Neisser-Färbung wenigstens zeitweise zweifelhaft (Intraperitonealstämmen). Auch das Wachstum im tiefen Agarstich kann schlechter werden, z. B. bei erhaltener Virulenz. Nie wurde jedoch beobachtet, daß bei einem virulenten Stamme die Fähigkeit zu anaërobem Wachstum ganz aufhörte. Diese Fähigkeit zur Anaërobie scheint daher mit der Virulenz in Beziehung zu stehen. Auch bei den virulenten Stämmen aus dem Jahre 1913 wurde bei keinem das anaërobe Wachstum vermißt.

Es bleibt schließlich noch die dritte Frage nach dem Rückschlag. Auch sie überschauen wir am besten bei Betrachtung der Tabelle VIII und IX. Wir sehen da, daß vollständige Rückschläge nur dann vorkommen, wenn die betreffenden Stämme noch nicht tiefgreifend verändert sind, wenn ein, höchstens zwei Punkte von der Verwandlung ergriffen waren; dementsprechend finden wir die Rückschläge auch in der Mehrzahl nach den ersten Meerschweinchenpassagen. Sicher sind diese Rückschläge aus einem atypischen Punkt zum Typus häufiger, als wir sie verzeichnen konnten. Diejenigen, die wir allein richtig erfassen können, sind doch nur die morphologischen und färberischen Rückschläge. Bei den Rückschlägen der Kultureigenschaften ist die Beobachtung durch die natürlichen Fehlerquellen sehr erschwert.

Hatte ein Stamm einmal seine Virulenz verloren, so

konnte eine Wiedererlangung derselben **nie** beobachtet werden, selbst wenn er in anderen Punkten zum Typus zurückschlug.

Teilweise Rückschläge sind ziemlich selten. Im ganzen Material der M-Stämme sind 5 beobachtet worden, hiervon 3 von 2 zu 1 atypischen Punkte und 2 von 5 auf 4 atypische Punkte. Es sind dies die beiden Stämme 117 M VI a 1 und 2, die nach geraumer Zeit nur die Form der Diphtheriebacillen wiedererlangten, sich sonst aber in Kulturprüfung usw. nicht veränderten. Es ist damit natürlich nicht entschieden, daß die Stämme so bleiben werden, es wäre durchaus im Bereich der Möglichkeit, daß sich nach und nach auch die eine oder die andere Fähigkeit wiedereinstellt. Sehr auffallend ist aber bei 117 M VI a 2, daß die zuerst gut ausgebildete Fähigkeit, im anaëroben Stich zu wachsen, in der gleichen Zeit, in der der „Rückschlag“ erfolgte, schlechter wurde.

Es scheint, daß, je länger die Beobachtung der Stämme ausgedehnt wird, desto mehr Veränderungen und Abweichungen nach vorwärts und rückwärts beobachtet werden können. Das zeigen uns nicht nur diese „Rückschläge“, das lehrten uns auch die Photographieen. Wie wir die gesamten Beobachtungen auch in dieser Hinsicht zu werten haben, wird weiter unten erörtert.

So viel zeigen uns jedoch die beobachteten Rückschläge, daß tatsächlich unter allen diesen beobachteten Stämmen verwandtschaftliche Beziehungen bestehen. Ein Rückschlag vom Diphtheroid- zum Diphtherietypus, selbst wenn er nur teilweise erfolgt, wäre ja sonst gar nicht zu erklären. Außerdem zeigen dies auch die vielen Uebergangsformen, die wir beobachtet haben. Es ist dies also ein weiterer Beweis dafür, daß die herausgezüchteten Stämme tatsächlich die Abkömmlinge der eingespritzten Bakterien sind. Um diesen Beweis nun noch mehr zu erhärten, sowie um Genaueres über die verwandtschaftlichen Beziehungen sowohl zu den in der Natur vorkommenden Diphtheriebacillen wie auch zu den dort auffindbaren Diphtheroiden zu klären, wurden verschiedene Komplementablenkungsversuche angestellt, die im folgenden näher beschrieben werden sollen.

Ursprünglich war geplant, diese Verwandtschaftsprüfungen mittels einer anderen Immunitätsreaktion, der Agglutination, vorzunehmen. Wie bei der Schilderung der einzelnen Stämme bereits ausgeführt wurde, war jedoch eine große Anzahl so stark klumpend, und fielen versuchsweise angestellte Aufschwemmungen so schlecht aus, daß ein ersprießliches Arbeiten mit diesem Verfahren nicht zu erwarten schien. Wir versuchten auch durch Abschleuderung der Bakterienteilchen in der Zentrifuge, ferner durch verschieden lange Hitzebehandlung, die Aufschwemmungen gleichmäßig zu machen, ohne jedoch diese Bemühungen von Erfolg gekrönt zu sehen. Ich beschloß daher, das Verfahren der Komplementablenkung zu benutzen. Zu diesem Zwecke wurden je zwei Kaninchen zu mehreren Malen mit steigenden Dosen der abgetöteten Bacillen 117 VIII und 131 VIII intravenös eingespritzt. Nachdem die Tiere ungefähr 4—5 Einspritzungen durchgemacht hatten, zeigte ein Vorversuch, daß ihr Serum in hohem Maße ablenkende Antikörper für die eingespritzten Stämme besaß. Es wurde sodann den Tieren eine genügende Menge Blut abgenommen und sogleich die Versuche mit sämtlichen noch vorhandenen Stämmen ausgeführt.

Tabelle XIV. Ablenkungsergebnis der Stämme 117 mit Serum 117.

Nummer	Serumdosis				Bacillen- kontrolle	derselbe Stamm war atypisch in den Punkten:	also typisch in ... Punkten
	0,1	0,01	0,005	0,004			
117VIII	++	++	+	±	0	—	5
117MI1	+	±	0	0	0	—	5
117MI2	±	0	0	0	0	m n s ₂ v	1 ¹ / ₂
117MII1	++	+	0	0	0	—	5
117MII2	++	+	0	0	0	—	5
117MII3	++	±	0	0	0	—	5
117MII4	++	+	0	0	0	—	5
117MII5	++	±	0	0	0	(n?)	5 (±?)
117MII6	++	±	0	0	0	anfangs n t m ₂ , später —	anf. 2 ¹ / ₂ , spät. 5
117MII7	++	+	±	0	0	anfangs n ₂ , später —	anf. 4, spät. 5
117MII10	++	+	0	0	0	n?	4—5
117MIIIa2	++	++	+	+	0	t?	4—5
117MIIIa3	++	++	+	±	0	t?	4—5
117MIIIa4	++	++	+	±	0	—	5
117MIIIa5	++	+	±	0	0	—	5
117MIIIa6	++	±	0	0	0	anfangs t, später —	anf. 4, spät. 5
117MIIIb1	++	+	0	0	0	n?	4—5
117MIIIb3	++	++	+	±	0	anfangs n? t?, später ?	anf. 3—4, spät. 4—5
117MIIIb4	++	±	0	0	0	t?	4—5
117MIIIc1	++	++	+	0	0	t?	4—5
117MIIIc2	++	++	+	0	0	—	5
117MIIIc3	++	0	0	0	0	—	5
117MIIIc4	++	++	+	±	0	anfangs n?, später —	anf. 4—5, spät. 5
117MIId1	±	0	0	0	0	m n ₂ t v	1 ¹ / ₂
117MIId2	++	+	±	0	0	anfangs n t?, später t?	anf. 3—4, spät. 4—5
117MIId3	++	+	+	±	0	n?	4—5
117MIId4	++	±	0	0	0	anfangs n t?, später t?	anf. 3—4, spät. 4—5
117MIVa1	++	+	+	±	0	n	5
117MIVb1	++	+	0	0	0	—	4
117MIVb3	++	0	0	0	0	t n ₂ s v	1 ¹ / ₂
117MIVc1	+	+	±	0	0	m ₂ n ₂ v	2 ¹ / ₂
117MIVc2	++	±	0	0	0	m ₂ n ₂ v	2 ¹ / ₂
117MIVc3	±	0	0	0	0	m ₂ n ₂ v	2 ¹ / ₂
117MIVc4	+	+	0	0	0	m ₂ n ₂ v	2 ¹ / ₂
117MIVe1	⊕	0	0	0	0	m n ₂ t s v	1 ¹ / ₂
117MIVe2	+	±	0	0	0	anfangs n ₂ s v, später noch m	anf. 2 ¹ / ₂ , spät. 1 ¹ / ₂
117MIVf1	++	+	+	0	0	—	5
117MIVf2	++	+	+	0	0	—	5
117MIVf3	++	+	+	0	0	—	5
117MIVf4	++	+	+	0	0	—	5
117MIVf5	++	+	+	0	0	—	5
117MIVf6	++	+	+	0	0	—	5
117MIVf7	++	+	+	0	0	—	5
117MIVf8	++	±	0	0	0	m ₂ n ₂ s v	1 ¹ / ₂
117MIVf9	⊕	0	0	0	0	anfangs n t s v, später noch m	anf. 1, spät. 0
117MIVf10	±	0	0	0	0	n t s v	1
117MIVh1	++	±	0	0	0	anfangs m ₂ n ₂ s v, später m	anf. 1 ¹ / ₂ , spät. 1 ¹ / ₂
117MIVh2 _α	++	0	0	0	0	m n ₂ s v	1 ¹ / ₂
117MIVh2 _β	++	±	0	0	0	m n ₂ s v	1 ¹ / ₂
117MIVh3	+	±	0	0	0	m n ₂ s v	1 ¹ / ₂
117MIVh4	++	+	0	0	0	anfangs n s v, später noch n ₂ m	anf. 2, spät. 1 ¹ / ₂
117MIVh5	++	0	0	0	0	„ n s v, „ „ n ₂ m	„ 2, „ 1 ¹ / ₂
117MIVa1	++	±	0	0	0	„ anfangs n ₂ , später —	anf. 4 ¹ / ₂ , spät. 5
117MIVa2	++	0	0	0	0	anfangs n, später —	anf. 4, spät. 5
117MVIa1	+	0	0	0	0	anf. m n t ₂ s v, spät. n t ₂ s v	anf. 1 ¹ / ₂ , spät. 1 ¹ / ₂
117MVIa2	++	0	0	0	0	anf. m n ₂ s v, spät. n ₂ t ₂ s v	anf. 1 ¹ / ₂ , spät. 1 ¹ / ₂

Kontrolle: Serum 117 allein alles gelöst.

Tabelle XV.

Zum Vergleich wurden folgende Stämme mit dem Serum 117
auf Ablenkung geprüft:

Bezeichnung	Serumdosis				Bacillen- kontrolle	derselbe Stamm war atypisch in den Punkten:	also typisch in ... Punkten
	0,1	0,01	0,006	0,004			
117 VIII	++	++	++	+	0	—	5
131 VIII	++	+	⊕	0	0	—	5
Di 229	++	++	+	0	0	—	5
Di Grw.	+	±	0	0	0	—	5
Di 89	+	0	0	0	0	—	5
Di 2211	+	0	0	0	0	—	5
Di 2215	+	0	0	0	0	—	5
462	+	±	0	0	0	n	4
375	0	0	0	0	0	m t/2 v	2 1/2
84	⊕	0	0	0	0	m/2 v	3 1/2
Pad.-Grw.	0	0	0	0	0	m n t s v	0
" 160	0	0	0	0	0	m n t s v	0
Xerose	0	0	0	0	0	m n t s v	0

Kontrolle: Serum allein überall gelöst.

Tabelle XVI. Ablenkungsergebnis der Stämme 131 mit Serum 131.

Nummer	Serumdosis				Bacillen- kontrolle	derselbe Stamm war atypisch in den Punkten	also typisch in ... Punkten
	0,1	0,01	0,006	0,004			
131 VIII	++	++	++	+	0	—	5
131 M I 1	++	++	++	+	0	—	5
131 M I 2	++	++	++	+	0	—	5
131 M II 1	++	++	++	+	0	anf. m n, später —	anf. 3, später 5
131 M II 2	++	++	+	±	0	" n/2, " —	" 4 1/2 " 5
131 M II 3	++	++	++	+	0	" n, " —	" 4 " 5
131 M II 4	++	++	++	+	0	—	5
131 M II 5	++	++	++	+	0	—	5
131 M II 6	++	++	++	+	0	" m, " —	anf. 4, später 5
131 M II 8	++	++	+	±	0	—	5
131 M III a 1	+	0	0	0	0	m n t v	1
131 M III a 2	+	±	0	0	0	m n t v	1
131 M III b 2	++	++	+	±	0	—	5
131 M III b 4	++	++	++	+	0	—	5
131 M III c 1	++	++	++	+	0	—	5
131 M III c 2	++	++	++	+	0	v ?	5
131 M III c 3	++	++	++	+	0	—	4
131 M III c 4	++	++	++	+	0	—	5
131 M IV a 2	+	0	0	0	0	m n s v	5
131 M IV a 3	+	⊕	0	0	0	anf. n s v, später noch m	1
131 M IV a 4	+	⊕	0	0	0	m n s v	1
131 M IV c 1	+	⊕	0	0	0	m n s t v	0
131 M IV e 1	+	0	0	0	0	anf. m/2 n/2 t s/2 v, sp. m n/2 t s/2 v	anf. 3/2, spät. 2/2
131 M IV e 2	±	±	0	0	0	m n/2 v	2 1/2

Kontrolle: Serum 131 allein alles gelöst.

Zeichenerklärung:

positiv
++ ganz gehemmt
+ fast ganz gehemmt
+ etwas gehemmt
± Spur Hemmung (ganz
kleine Kuppe)

negativ
⊕ fast ganz gelöst (ganz
dünner Schimmer)
0 vollständig gelöst

Komplementablenkungsversuche.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen XIV—XVII aufgeführt. In denselben steht links die Bezeichnung des geprüften Stammes, sodann die Reaktionsgröße desselben mit den verschiedenen Serummengen. Es folgt weiter der Ausfall der Bacillenprüfung auf Eigenhemmung, die nie vorkam. Schließlich fügte ich auf der rechten Seite der Tabelle noch die Formel des Bacillus, wie wir sie oben kennen gelernt haben, bei, damit ein Vergleich rasch ausgeführt werden kann. Wie wir an den Tabellen sehen können, sind die ablenkenden Fähigkeiten der beiden Seren 117 und 131 fast genau die gleichen für die homologen Stämme. Beide geben mit dem zugehörigen Stamm bis 0,006 starke Hemmungen, und auch das letzte Röhrchen mit 0,004 ist deutlich gehemmt. In diesem letzten Röhrchen war bei verschiedenen Versuchen das Ergebnis etwas verschieden. Mit den homologen Stämmen war der Ausfall hier einmal etwas stärker, einmal etwas schwächer, immer war aber eine deutliche Hemmung festzustellen. Als Antigen wurde $\frac{1}{2}$ Oese Bacillenaufschwemmung genommen. Vorversuche hatten ergeben, daß bei $\frac{1}{2}$ Oese bereits die stärkste Hemmung erreicht wurde. Selbst 1 Oese hatte nie selbsthemmende Wirkung.

Die Menge des zu verwendenden Komplementes wurde vor jedem Versuch autitriert, Vorversuche ergaben, daß die einfache und die $1\frac{1}{2}$ -fache lösende Menge die besten und regelmäßigsten Ergebnisse hatten. Es wurde infolgedessen bei den Versuchen die $1\frac{1}{2}$ -fache Dosis genommen; da die lösende Dosis gewöhnlich 0,02 war, also 0,03.

Als Amboceptor wurde die doppelte Dosis eines hochwertigen Hämolsins verwandt und zwar immer das gleiche mit dem Titer 1:2000. Die benutzte Verdünnung war also 1:1000.

Die Blutkörperchenaufschwemmung war wie üblich 5-prozentig.

Die Bezeichnung der Reaktionsgrößen in den Tabellen ist folgendermaßen: ++ ganz gehemmt, +. fast ganz gehemmt, + etwas gehemmt, ± Spur Hemmung, so daß sich beim Stehenlassen noch eine ganz kleine Kuppe Bodensatz zeigte. Diese Befunde wurden als positiv betrachtet. Bei dem Uebergang zu den negativen steht der folgende Befund: ⊕ fast ganz gelöst. Bei der Beobachtung dieses Befundes zeigt sich nur noch ein ganz dünner Schimmer von roten Blutkörperchen. Vollständig negativ ist der letzte Befund: 0 vollständig gelöst.

Das Ergebnis der Ablenkungen, wie wir sie in den Tabellen XIV und XVI überblicken können, ist nun außerordentlich bemerkenswert. Erstens sehen wir, daß selbst von den Stämmen, die ganz typisch geblieben sind, nur wenige genau so stark noch mit dem Serum die Ablenkung ergeben wie die Ausgangsstämme; zweitens sehen wir, daß, je geringer die Zahl der typischen Punkte wird, desto geringer wird auch das Ablenkungsvermögen der Bakterien, jedoch verschwindet es bei keinem der Abkömmlinge vollständig. Besonders bei den Stämmen 131 sehen wir bei allen in dem ersten Röhrchen 0,1 Serum überall eine deutliche Ablenkung. Bei dem Stamm 117 ist es im wesentlichen genau so mit nur 2 Ausnahmen. Die Stämme 117 M IV e 1 und 117 M IV f 9 geben mit 0,1 Serum das Ergebnis ⊕, verhalten sich also zweifelhaft bzw. negativ. Auf die Bedeutung dieser Befunde wollen wir eingehen, wenn wir nun die nächsten Tabellen XV und XVII betrachtet haben.

Es wurden in diesen Tabellen die Ergebnisse zusammengestellt von Ablenkungen aller der Stämme, die ich aus dem Jahre 1913 zur Ver-

Tabelle XVII.

Zum Vergleich wurden folgende Stämme mit dem Serum 131 auf Ablenkung geprüft:

Bezeichnung	Serumdosis				Bacillen- kontrolle	derselbe Stamm war atypisch in den Punkten	also typisch in . . . Punkten
	0,1	0,01	0,006	0,004			
131 VIII	++	++	+	±	0	—	5
117 VIII	++	++	±	⊕	0	—	5
Di. 229	++	+	0	0	0	—	5
Di. Grw.	++	+	⊕	0	0	—	5
Di. 89	±	⊕	0	0	0	—	5
Di. 2211	±	⊕	0	0	0	—	5
Di. 2215	±	0	0	0	0	—	5
Di. 463	+	±	0	0	0	n	4
375	+	±	0	0	0	n t/2 v	2 1/2
84	±	⊕	0	0	0	m/2 v	3 1/2
Ps. Grw.	⊕	0	0	0	0	m n t s v	0
Ps. 160	⊕	0	0	0	0	m n t s v	0
Xerose	⊕	0	0	0	0	m n t s v	0

Kontrolle: Serum allein überall gelöst.

Ablenkungsversuche mit anderen Bakterien mit Serum 117 und 131 hatte beide Male folgendes Ergebnis:

	Serumdosis				Bac.-Kontr.
	0,1	0,01	0,006	0,004	
Staphylokokken	0	0	0	0	0
Staphylokokken + Subtilis-Gemisch	0	0	0	0	0
Loeffler-Serum-Abstrich (steril)	0	0	0	0	0

fügung hatte. Es waren dies im ganzen 5 echte Diphtheriebacillen, 2 zweifelhafte und 2 Pseudostämme. Außerdem benutzte ich noch für das Serum 117 den Stamm 131 zur Kontrolle und umgekehrt; und außerdem 2 neu herausgezüchtete Stämme, einen echten Diphtheriebacillus und einen Pseudodiphtheriebacillus, so daß die Zahl der Kontrollen in jedem Fall gerade 12 betrug. Beide Tabellen, sowohl die mit dem Serum 117 wie 131, zeigen nun übereinstimmend, daß keine der Kontrollen, auch die echten Diphtheriebacillen nicht, so stark mit dem Serum ablenken wie der homologe Stamm. Ja, der Stamm 89 z. B., ferner die Stämme 2211 und 2215 verhielten sich nicht anders als die stark umgewandelten Stämme oben. Desgleichen der atypische, aber virulente Stamm 462. Die Stämme 375 und 84, die zu den zweifelhaften gehörten, verhielten sich mit Serum 131 schwach positiv, mit Serum 117 negativ (in den höheren Dosen [0,1] schien das Serum 131 etwas kräftiger abzulenken). Im Vergleich dazu verhielten sich die Pseudodiphtheriebacillen nun außerordentlich kennzeichnend. Mit dem Serum 117 sind alle drei ganz negativ. Bei dem Serum 131 findet sich in den ersten Röhrchen mit 0,1 Serum noch ⊕.

In beiden Versuchsserien ist jedoch der Unterschied zu unseren Verwandlungsstämmen außerordentlich stark. Bei dem Stamm 131 war keiner der verwandelten Stämme bis zur vollkommenen Negativität und auch nicht bis zu ⊕ mit 0,1 Serum gelangt. Bei dem Stamm 117 sind es nur die Stämme, die wir schon oben erwähnt, M IV e 1 und M IV f 9, die bei 0,1 Serum ⊕ zeigten, während die natürlichen Pseudodiphtheriebacillen mit Serum 117 ganz negativ waren. Es ist uns sehr wichtig, zu sehen, daß gerade diese beiden Stämme zu

den am stärksten veränderten gehören, M IV f 9 ist bei der späteren Prüfung in 0 Punkt, M IV e 1 nur noch in $\frac{1}{2}$ Punkte typisch (atypische Neisser-Färbung). Zu der Beurteilung der Versuche ist dabei noch zu bemerken, daß die Ablesung vollkommen unbeeinflußt geschah, indem die verschiedenen Stämme zuerst zusammengestellt und mit einfachen Nummern bezeichnet worden waren. Die Ablenkungsröhrchen bekamen nur die Nummer der betreffenden Stämme. Es war bei der Ablesung vollkommen unmöglich, im Gedächtnis zu behalten, welche Stämme den einzelnen Nummern entsprachen, und selbst wenn diese bekannt gewesen wären, so genügte das Erinnerungsbild, das dadurch ausgelöst wurde, doch noch nicht, um nun sämtliche Eigenschaften des betreffenden Stammes vor Augen zu sehen. Dazu ist die Fülle der beobachteten Einzeleigenschaften bei den vielen Stämmen zu erdrückend. Zum Schluß geben wir noch in Tabelle XVII den Ablenkungsversuch mit einigen anderen Bakterien, sowie mit einem Abstrich von einem sterilen Hammelserumröhrchen, da vielleicht der Einwand erhoben werden könnte, daß das mit in die Röhrchen gebrachte Hammeleiweiß als Antigen wirken und so die Reinheit der Reaktion trüben könnte. Wie Tabelle XVII zeigt, sind diese Versuche mit beiden Seren vollkommen negativ ausgefallen.

Zusammenfassend über diese Versuche können wir also feststellen, daß sich mit dem Ablenkungsverfahren ein unverkennbarer Unterschied zwischen unseren künstlich erzeugten Stämmen und den in der Natur vorkommenden Pseudodiphtheriebacillen finden ließ. Letztere waren mit dem ablenkenden Diphtherieserum 117 und 131 negativ, die verwandelten Stämme zeigten mit zwei Ausnahmen einen deutlich positiven Ausschlag. Zwei hatten fast ein negatives Ergebnis, gerade diese haben jedoch das eine mit den in der Natur vorkommenden Diphtheroiden gemeinsam, daß sie in keinem der entscheidenden 5 Punkte mehr ganz typisch zu nennen sind, es fehlt ihnen jede Eigenschaft der Diphtheriebacillen. Wie uns die oben angegebenen Tabellen VIII, IX und XIII aber zeigen, ist das gerade der Hauptunterschied zwischen den in der Natur gefundenen und den meisten von uns erzeugten diphtheriebacillenähnlichen Bakterien. Jene sind in der Mehrzahl in allen Punkten vollkommen abweichend, diese nur in der Minderzahl. Aber selbst wenn einer der veränderten Stämme auch sämtliche Eigenschaften verloren hat, so kann er sich bei der Ablenkungsreaktion doch noch von den natürlichen Diphtheroiden unterscheiden; das zeigt z. B. der Bacillus 117 M V d 1, der mit 0,1 Serum 117 deutlich positives Ergebnis aufwies, das zeigt ferner der Stamm 131 M IV c 1, der auch alle 5 Diphtheriebacilleneigenschaften verloren hatte und doch mit dem Serum 131 im ersten Röhrchen deutlich positiv reagiert, im zweiten Röhrchen gerade auf der Grenze zu negativ steht.

Als letztes Ergebnis auf die uns oben gestellten Fragen können wir also folgende Antwort geben:

Die Umwandlung der echten Diphtheriebacillen durch den Tierkörper kann zu allen Stadien von der flüchtigen, sofort rückschlagenden bis zu der alle Punkte umfassenden Veränderung führen.

Dieser Umschlag geschieht dabei in langsamem Fortschreiten; nicht plötzlich, sondern nach und nach werden die Eigenschaften der Bakterien abgebaut.

Die daraus sich herleitenden vielen Zwischenformen, sowie die durch die Ablenkung bewiesenen Verwandtschaftsbeziehungen der verschiedenen Formen zueinander, schließlich die Rückschlüsse geben uns die Gewißheit, daß sie wirklich veränderte Formen, Abkömmlinge der eingespritzten Bacillen sind.

II.

Folgerungen für die Beurteilung der natürlich vorkommenden Pseudodiphtheriebacillen.

Wie ich schon ausgeführt hatte, hing die Entscheidung, ob Diphtheriebacillen und Pseudodiphtheriebacillen zu einer großen, entstehungsgeschichtlich einheitlichen Gruppe zusammenzufassen sind, zum großen Teil von der Beantwortung der Frage ab, ob es gelingen würde, Uebergänge dergestalt zu finden, daß einzelne Bakterien einen Teil der Eigenschaften des Diphtheriebacillus besitzen, in anderer Beziehung jedoch zu den Diphtheroiden gehörten. Bei der Suche nach solchen Bakterien in der Natur ist es offenbar außerordentlich schwierig, diese Uebergänge aufzufinden. Es war also der gegebene Weg, sie künstlich entweder aus dem einen oder anderen Bakterium herzustellen.

Diese Aufgabe ist uns in den vorliegenden Umwandlungsversuchen offenbar gelungen; denn wir konnten aus typischen Diphtheriebacillen reiner Linien, wenn man nur über die genügende Ausdauer verfügte, nicht nur eine beliebige Anzahl vollständig veränderter Bakterien erzeugen, sondern es gelang auch die Darstellung von allen Arten von Zwischenstufen.

Es fragt sich nun, ob hiermit tatsächlich die alte Streitfrage von Grund auf im Sinne der Einheitslehre gelöst ist. Es könnte ja immer noch die Möglichkeit bestehen, daß die in der Natur auffindbaren Pseudodiphtheriebacillen vielleicht in ihrem Stammbaum vor Urzeiten zwar einen Zusammenhang mit den Diphtheriebacillen haben, doch ist diese Differenzierung vielleicht schon vor so langer Zeit erfolgt, daß die beiden Formen als feste Differenzierungen anzusehen sind.

Aber dem widersprechen doch weitere Beobachtungen. Die Tatsache, daß sich die Pseudodiphtheriebacillen vorzugsweise gerade bei Diphtherierekonvaleszenten und Bacillenträgern finden, wäre damit nicht erklärt. Solche Beobachtungen, daß sich die Diphtheroiden hauptsächlich nach Diphtherieerkrankungen finden, sind schon von Roux und Yersin gemacht worden, und auch

Tabelle XVIII.

Art der untersuchten Fälle:	1. echte Diphtherie	2. Nasendiphtherie	3. Angina und zweifelb. Diphtherie	4. Abge- laufene Diphtherie	5. Bacillen- träger
Zahl der untersuchten Fälle:	18	4	4	10	2
Darunter fanden sich „zweifelhafte“ Diphtheroide:	1	3	3	5	2

die von mir im Jahre 1913 gezüchteten Pseudodiphtheriebacillen stammten vorzugsweise aus den Abstrichen von Rekonvaleszenten und Bacillenträgern (s. Tabelle XVIII).

Bei den 12 „abgelaufenen Diphtherieen“ und „Bacillenträgern“ wurden also 7 zweifelhafte und Diphtheroide gefunden.

Unter 202 klinisch unverdächtigen Fällen zur gleichen Zeit: 5.

Immerhin ist damit noch kein vollgültiger Beweis geliefert, daß nun tatsächlich die natürlich vorkommenden Diphtheroiden sich in der Hauptsache von echten Diphtheriebacillen ableiten. Es bedürfte dazu noch planmäßiger Untersuchungen am Menschen, indem aus den Diphtheriekranken die Diphtheriestämme herausgezüchtet und mit einem mit diesen Stämmen hergestellten ablenkenden Serum dann Ablenkungsversuche mit den Diphtheroiden, die sich eventuell in der Rekonvaleszenz desselben Kranken finden, angestellt würden. Es wäre möglich, daß auf diese Weise der Ring zum Beweise geschlossen würde.

Noch eines bleibt aber zu erklären, wenn wir wirklich die Entstehung der Pseudodiphtheriebacillen, die wir in der Natur finden, wenigstens zum Teil als abstammend von den Diphtheriestäbchen ansehen wollen. Warum finden sich unter diesen Diphtheroiden in der Mehrzahl solche, denen alle 5 Punkte fehlen, während wir bei unseren Umwandlungsversuchen im Tierkörper meist nur eine Umwandlung bis zu 4 Punkten erreichten? Es ließe sich damit erklären, daß auf den Tonsillen des Diphtheriekranken die Abschwächungen zwar nicht so plötzlich, aber durch die lange Einwirkung der Körpersäfte gründlicher erfolgen, als es in unseren etwas gewaltsamen Tierversuchen gelingt. Vielleicht läßt sich zu solchen Versuchen auch noch das Verfahren des Kollodiumsäckchens in der Bauchhöhle mit Vorteil benutzen. Daß hier tatsächlich Einwirkung der Körpersäfte durch das Häutchen hindurch erfolgte, das konnte in dem zeitweisen Verschwinden der Neisser-Färbung beobachtet werden. Vielleicht ist es auch hier nur eine Frage der Ausdauer, um tiefgreifende und dabei schonendere Veränderungen des Bakteriums hervorzurufen.

Jedenfalls sind durch die Abänderungsversuche die Anschauungen von Roux und Yersin, Behring u. a., die das Zusammengehören der Diphtheriebacillen und der Diphtheroiden in eine große Gruppe fordern, um eine mächtige Stütze bereichert worden.

III.

Schlußfolgerungen für die Lehre der Bakterienveränderungen.

Nachdem wir uns im letzten Abschnitt darüber klar geworden sind, was die erzielten Veränderungen für die Sonderfragen der Diphtheriebacillenforschung bedeuten, ist es jetzt an der Zeit, uns der letzten Entscheidung zuzuwenden, welche Schlußfolgerungen wir aus den angeführten Ergebnissen für die Vererbungslehre bei Bakterien ziehen können.

Auch hier können wir wieder zwei Unterfragen trennen: erstens, was ist wirklich beobachtet, und wie haben wir die geschauten Veränderungen einzureihen, zu benennen?

Um diese Fragen mit der notwendigen Gründlichkeit abzuhandeln, muß ich auch auf Beobachtungen und Versuche Bezug nehmen, die andere Forscher an anderen Bakterien gemacht haben.

Der beschränkte Raum, der mir zur Besprechung noch übrigbleibt, gestattet mir leider nicht, hier auf alle Arbeiten und Beobachtungen näher einzugehen, das soll einmal an anderer Stelle geschehen. Hier sei nur das Wichtigste für die Klärung der verschiedenen Fragen hervorgehoben.

Wie wir gesehen, konnten wir dreierlei Erscheinungen beobachten: Steigerung, Verschwinden und Wiederauftreten von Eigenschaften. Die erste, die Steigerung, ist nicht übermäßig gewesen, sie ist nicht derart, daß man von der Entstehung einer „neuen Rasse“ oder „Art“ sprechen könnte, ganz abgesehen davon, daß sie auch nur vereinzelt bisher beobachtet wurde.

Auch das Wiederauftreten von verlorenen Eigenschaften geschah nur in einem Teil der Fälle und auch da oft nur teilweise.

Es bleibt also in der Hauptsache der zweite Punkt zu besprechen, das „Verschwinden“ von Eigenschaften. Hierbei haben wir uns nun verschiedene Fragen vorzulegen:

- 1) Ist dies eine richtungslose Bildung einer neuen Art?
- 2) Oder ist es eine „Anpassung an den Tierkörper“?
- 3) Oder ist es eine „Entartung“?

Bisher habe ich es im Interesse einer möglichst sachlichen Darstellung vermieden, mich irgendeiner besonderen Benennungsart für die beobachteten Verwandlungsformen zu bedienen. Wie man sieht, kam ich, ohne irgendwo anzustoßen, mit dem farblosen Worte „Veränderung“ aus.

Die bisher vorliegenden Arbeiten hielten sich zum allergrößten Teil nicht in dieser Grenze, das „*οἷδα ὅτι οὐκ οἷδα*“ wagten nur wenige auszusprechen, zu allermeist wurden die beobachteten Verwandlungen sofort als „Mutationen“ gedeutet. Außerdem bildete nun fast jeder nach seinem jeweiligen Beobachtungsstoff den Sinn des Wortes Mutation wieder um, so daß ein ganzer Wirrwarr von Vorstellungen, die alle diesem Begriffe unterlegt wurden, entstand.

Es scheint mir an der Zeit, daß damit einmal ein Ende gemacht wird, und die Stelle, die für die Umgrenzung des Begriffes maßgebend ist, wieder zu ihrem Rechte gelangt.

de Vries sagt in seinem Vorwort zur „Mutationstheorie“: „Aufgabe des vorliegenden Werkes ist es demgegenüber zu zeigen, daß Arten stoßweise entstehen und daß die einzelnen Stöße Vorgänge sind, welche sich ebensogut beobachten lassen, wie jeder andere physiologische Prozeß.“

„Die Stöße oder Mutationen, von denen die Sprung-Variationen die bekanntesten Beispiele sind, bilden eine besondere Abteilung in der Lehre von der Variabilität. Sie geschehen ohne Uebergänge und sind selten, während die gewöhnlichen Variationen kontinuierlich und stets vorhanden sind.“

Klarer und deutlicher kann es gar nicht ausgedrückt werden, was eine Mutation ist:

Eine Mutation geschieht plötzlich, ohne Uebergänge und richtungslos;

sie wird zum Ausgangspunkt einer neuen Art, ist daher im allerstrengsten Sinne erblich;

von ihr werden nur einzelne Individuen einer Art befallen, nie alle, sie ist daher sehr selten.

Selbst wenn der Punkt 2 von de Vries selbst eingeengt wurde, indem er spätere Rückschläge annahm, ist dann wirklich der Standpunkt vieler Bakteriologen, wie er z. B. von Baerthlein vertreten wird, berechtigt, daß „Mutationen“ bei allen Bakterien fast regelmäßig zu beobachten sind, und daß diese neuen Formen dann mit gleicher Regelmäßigkeit „zurückmutieren“? Das heißt doch den Sinn der de Vries'schen Lehre ganz verdrehen. Es sollen doch durch die Mutation „neue Arten“ entstehen. Es ist das aber doch keine neue Art, wenn sie nach 10 oder 100 oder 1000 Tagen plötzlich wieder den alten Typus annimmt.

Auch die anderen von de Vries geforderten Eigenschaften der Mutation pflegen bei den als solchen beschriebenen Veränderungen zu fehlen. Burri u. a. konnten nachweisen, daß erstens die zumeist untersuchte Eigenschaft der Neuerwerbung von irgendeiner Zuckervergärung nicht plötzlich, sondern im langsamen Anpassen erworben wird (daher auch nicht richtungslos), und zweitens, daß von dieser Aenderung tatsächlich alle Individuen befallen werden.

Ueberhaupt erscheint es mir zweifelhaft, ob die Neuerwerbung der Vergärung eines Zuckers bei schon bestehender Vergärungsfähigkeit für andere Zucker die Erwerbung einer neuen Arteigenschaft bedeutet. Wir benützen diese Einteilung doch bei einigen Bakterien nur aus praktischen Gründen, nämlich darum, weil wir an ihnen sonst keine großen Unterschiede feststellen können. Ueberdies wissen wir über die Fermente und ihre Spezifität noch viel zu wenig, als daß wir solche Unterschiede für grundlegend betrachten dürften. Wer weiß zu sagen, daß ein Ferment sich nicht ohne große Mühe einem neuen Zucker anzupassen versteht? Dann haben wir dasselbe Ferment mit zwei Vergärungsfähigkeiten. Erst dann könnten wir die Vergärung verschiedener Zucker als grundlegenden Unterschied anerkennen, wenn wir gewiß wüßten, daß zu denselben auch zwei ganz verschieden konstituierte Fermente gehören. Davon sind wir noch weit entfernt.

Diese Einwände sind auch dem Versuche von Seiffert zu entgegen, durch den es zu zeigen gelang, daß künstlich malachitgrün gefärbte Coli-Stämme die Fähigkeit bekamen, Rohrzucker zu vergären, was der Ausgangsstamm nicht konnte. Ohne Zweifel ist dies eine neue „Errungenschaft“; ob sie aber genügt, um eine neue Art aufzustellen, das ist durchaus nicht klar, und somit ist der Vorgang keine „Mutation“ im Sinne von de Vries. Besonders wo ja in der Natur Coli-Stämme vorhanden sind, die Rohrzucker vergären¹⁾.

Entweder sind physiologische Unterschiede, wie die Vergärungs-

1) Weiter ist zu dem Versuche Seifferts folgendes zu bemerken: Aus seiner Veröffentlichung (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 71. p. 561) geht leider nicht hervor, welches Malachitgrün zu den Versuchen benutzt wurde.

Diese Frage ist deshalb von Wichtigkeit, weil viele Malachitgrünarten einen ziemlich hohen Prozentsatz Dextrin enthalten.

Hat aber Seiffert mit dextrinhaltigem Malachitgrün gearbeitet, dann ist seine Schlußfolgerung, „daß jeder Einfluß einer eventuellen Anpassung fehlt“, hinfällig.

Rohrzucker ist ein Spaltungsprodukt des Dextrins, und außerdem ist bisher kein Ferment bekannt, das Dextrin spaltet, das nicht auch Rohrzucker spalten könnte. Es könnte sich also in obigem Falle um eine Dextringewöhnung handeln und die plötzliche Vergärung des Rohrzuckers hätte mit der eigentlichen Giftfestigkeit nichts zu tun!

fähigkeit, zur Unterscheidung von Arten zuzulassen oder nicht. Gerade aber in der Bakteriologie wurde hier mit zweierlei Maß gemessen.

So fiel es niemand ein, auch nicht dem strengsten Dualisten, die avirulenten, aber sonst typischen Diphtheriestämme für eine gesonderte „Art“ zu halten, obwohl die Virulenz auch ein und zwar sehr großer physiologischer Unterschied ist.

Durchaus folgerichtig wurde daher vor einiger Zeit von Kraus und Loewy ein Hühnerpestvirus, das auch für Gänse virulent war, als eine Varietät beschrieben. Aber sowie ein Bacillus der Coli-Gruppe eine neue Vergärungsfähigkeit zu seinen vielen anderen erhielt, dann wurde dies als Mutation, also ein artbildender Prozeß angesprochen.

Von de Vries ist die Mutationstheorie erdacht als Erklärung der Aufwärtsentwicklung der Lebewesen. Sie sollte die ihm unglaublich erscheinende Selektionstheorie Darwins ersetzen. Es müssen also durch die Mutation „höhere Arten“, die durch ganz neue Eigenschaften, hervorstechen, gebildet werden. Wie steht es damit bei der Bakterien-„Mutation“?

Die oben geschilderte und als Arteigenschaft abgelehnte Erwerbung neuer Zuckervergärung ist tatsächlich das einzige, was an progressiven „Mutationen“ beschrieben worden ist. Alles andere sind „Verlust-Mutationen“.

Es ist gelungen, Bakterien die Virulenz, das Kapselbildungsvermögen, die Sporenbildung usw. zu nehmen, aber nie ist es bisher gelungen, solche Eigenschaften neu bei Bakterien hervorzurufen. Die Versuche von Mühlmann, der echte Ruhrbacillen in bewegliche Stäbchen durch alkalische Nährböden verwandelt haben will, sind nicht genügend gestützt und bisher nicht bestätigt, desgleichen die Umwandlung von Streptokokken in Pneumokokken und umgekehrt von Rosenow.

Ein Grund, der häufig für die Berechtigung der Bezeichnung Mutation angegeben wird, ist die Beobachtung des plötzlichen Auftauchens. Aber gerade das ist nun etwas, das wir bei den Bakterien am allerwenigsten beobachten können. Es werden hier ja keine Einzelwesen, sondern immer nur große Massen in einer Kultur beobachtet. Jede Kolonie besteht ja schon aus Millionen von Generationen; wenn also von einer Kultur zur anderen Aenderungen beobachtet werden, so können dieselben doch auch ganz allmählich sich ausgebildet haben. Jedenfalls fehlt jeder Beweis für den plötzlichen Eintritt der Aenderung und ist dieser auch keinem möglich. Der Vorschlag von Eisenberg, die ganze Kultur als einen den Metazoen entsprechenden Zellenstaat, als ein Einzelwesen zu betrachten, erscheint mir nicht der Wirklichkeit angepaßt. Der Vergleich ist schon deshalb unzulässig, weil bei den Bakterien ja jede Zelle sich selber fortpflanzt, was bei den Metazoen nicht der Fall ist.

Also auf diesem Wege ist es nicht möglich, die Plötzlichkeit des Umschlages festzuhalten.

Wir sehen also, von den drei Gründen, die de Vries zur Aufstellung des Mutationsbegriffes bewogen haben, ist kein einziger bisher beschriebener für die Bakterienveränderungen restlos anwendbar.

Folgerichtig ist also der Begriff der Mutation aus der Bakteriologie so lange zu verbannen, bis diese Vorbedingungen erfüllt sind.

Wenn die Veränderungen einen Namen erhalten sollen, und ein solcher gebührt ihnen wohl auch, so genügt ein Name, der kein Urteil

über Entstehung etc. vorausnimmt. Dafür genügt der Ausdruck Variation. In welcher Weise die Art der Variation genauer bestimmt werden kann, dafür sollen weiter unten Vorschläge gemacht werden.

Zunächst müssen wir jetzt zu unserem eigenen Beobachtungsstoff zurückkehren. Wir beobachteten Veränderungen, die alsbald wieder verschwanden, die also nach dem Sprachgebrauch als nicht erblich bezeichnet werden; ferner solche, die sich eine Zeitlang hielten und dann rückschlügen, und drittens solche, die, wenigstens solange die Beobachtung dauerte, anhielten, die sich also wahrscheinlich als feststehend ansehen ließen.

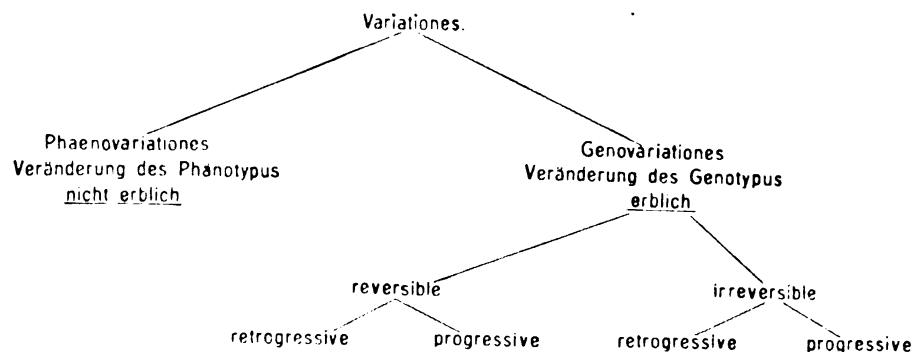
Es muß hier auf einen Punkt hingewiesen werden, der nach meiner Ansicht noch nicht genügend betont worden ist, nämlich, daß wir bei den Bakterien eigentlich nie unvererbliche Eigenschaften beobachten können. Selbst wenn nur die allererste Kultur die Veränderung zeigt, die zweite schon wieder ganz typisch ist, so muß sich die Verwandlung doch in der ersten Kultur vererbt haben, besteht dieselbe doch aus Millionen von Generationen. Nicht-erbliche Veränderungen könnten wir, streng genommen, nur im Mikroskop an den einzelnen Individuen beobachten.

Der Unterschied zwischen der ersten und zweiten soeben unterschiedenen Gruppe besteht daher nur dem Grade nach, ist nicht grundsätzlich. Ob ein solcher grundsätzlicher Unterschied zwischen der zweiten und dritten besteht, ist auch nicht bestimmt zu beantworten, immerhin ist es wahrscheinlich.

Die von uns beobachteten Veränderungen bestanden alle in einem Verlust von Eigenschaften. Wir konnten die Merkmale eines Diphtheriebacillus in 5 Punkten auflösen. Jeder einzelne dieser Punkte konnte ganz oder geteilt ausgemerzt oder latent werden, und zwar allein oder in Verbindung mit anderen. Dieses Verhalten paßt gut zu der Lehre der Genen oder Erbeinheiten von Johanssen.

Werden bei der Veränderung die Einheiten nicht unterdrückt oder vernichtet, dann ist nur der Phänotypus verändert, werden aber die Genen erreicht, dann ist auch der Genotypus abgeändert und damit auch die Veränderung erblich.

In Anlehnung an Johanssens Lehre möchte ich daher folgende Einteilung vorschlagen.



Den nicht-vererbbaaren Variationen des Phänotypus (Phänovariationen) sind bei Bakterien, streng genommen, nur die unter dem Mikroskop an den einzelnen Individuen erkennbaren zuzuzählen. Die gewöhnlich beobachteten rasch rückschlagenden, bisher als nicht erblich

angesehenen Veränderungen gehören bereits zu den Genovariationen, allerdings sind sie besonders leicht reversibel. In dieselbe Gruppe gehören alle rückschlagenden Veränderungen, ganz gleichgültig, ob der Rückschlag sehr bald oder sehr spät erfolgt. Alle diese Veränderungen können im Verlust oder im Neuerwerb von Eigenschaften bestehen. Erfolgt der Rückschlag in einigermaßen festgelegten Zeiten vor und wieder zurück, wie es die von Baerthlein als Mutationen beschriebenen Veränderungen tun, so könnte man für diese den besonderen Namen der zirkulären Variationen benutzen, hierzu gehört auch das *Bact. coli* „mutabile“. Erfolgt nach geraumer Zeit kein Rückschlag, so ist die Variation als irreversibel anzusehen.

Erst wenn einmal der Nachweis geliefert werden sollte, was ja durchaus möglich ist, daß eine gewiß neue Eigenschaft richtungslos und irreversibel entstanden ist, wäre man allenfalls berechtigt, von einer Mutation im Sinne von de Vries zu sprechen.

Bei unserem Untersuchungsstoff haben wir neu nur Verlust, nie Neuerwerb von Eigenschaften beobachtet. Es ist im wesentlichen das gleiche was Bail, Preisz u. a. am Milzbrand, Toennissen an den Friedländer-Stäbchen beobachtet haben. Zum Teil sind die beobachteten Veränderungen irreversibel, zum anderen reversibel, alle retrogressiv. Damit haben wir alles festgestellt, was wir beantworten können. Wie wenig wir über den Zweck und Sinn der Veränderungen wissen, können wir ersehen, wenn wir versuchen wollten, die oben aufgestellten Fragen zu beantworten.

So viel ist sicher, die erzielten Veränderungen sind sehr schwerwiegender Natur. Die herausgezüchteten Varietäten waren zum Teil in allen 5 Punkten verändert.

Der Unterschied, der zwischen den Diphtheroiden und den Diphtheriebacillen besteht, erschien bisher vielen groß genug, um beide für ganz getrennte Arten zu halten. Wenn an dieser Meinung festgehalten werden müßte, dann wäre hiermit aber eine Artumwandlung vollbracht.

Aber die Zwischenformen, die es uns gelang sowohl in der Natur, wie noch zahlreicher in unseren Versuchen aufzufinden, machen es doch wahrscheinlich, daß eigentlich alle in eine große Gruppe zusammengehören. Immer bleibt jedoch noch Verschiedenes rätselhaft. Wenn die Pseudodiphtheriebacillen vielleicht alle von den echten Diphtheriebacillen abstammen, warum erfolgt dann nie ein Rückschlag zum virulenten Typus?

In früherer Zeit pflegte man Beobachtungen wie die vorliegenden rasch mit der Bezeichnung Degeneration zu erklären. Auch unsprechen manche Gründe dafür, daß in gewisser Weise Entartung dabei mit im Spiele ist. Dahin gehören das häufige Auftreten von abnormen Wachstumsformen, die geringe Wachstumskraft besonders im Anfang, ferner das Eingehen so vieler Stämme, ferner die Beobachtung, daß die verschiedenen Eigenschaften in so willkürlicher Weise verschwinden, schließlich die Beobachtung, daß niemals mehr Stämme aus einem Meerschweinchen herausgezüchtet werden konnten, wenn der eingespritzte Stamm schon in mehreren Punkten verändert war. Alle diese Gründe könnten zu der Annahme führen, daß der Abbau der Eigenschaften durch weiter gar nichts hervorgerufen wäre, als daß die Bakterien in dem Augenblick, in dem sie auf den Nährboden gebracht wurden, durch die Körperkräfte bereits halb abgetötet waren und sie so in ihrer Lebenskraft geschädigt sind, daß sie ihre besten Eigenschaften für immer verloren hatten.

Aber andererseits kann auch mit gleichem Recht gesagt werden, daß Virulenz dem Diphtheriebacillus vielleicht nur zufällig eigentümlich ist, etwa so, wie dem Tetanusbacillus; daß dann das Fehlen dieser Eigenschaft gar keinen Verlust darstellt, sondern vielleicht im Gegenteil einen Gewinn, daß der Bacillus an seinem neuen Standorte (Rachenschleimhaut) anaërobes Wachstum und Zuckervergärung gar nicht mehr nötig habe, da er bessere Verhältnisse und reichlichere Nahrung hier antrifft, kurz, daß der Verlust aller dieser Eigenschaften nur das Ziel einer erhöhten Anpassung sei!

Es ist sicher, das Optimum für Leben und Gedeihen dieser Formen braucht nicht so zu sein, wie es sich der menschliche Verstand zurechtlegt. Gerade in das auf Tiere und Pflanzen angewandte Urteil „Degeneration“ mischt sich uns unbemerkt oft ein gutes Stück anthropozentrischen Denkens. Darum sind vorschnelle Urteile abzulehnen, bis bessere Erkenntnis der Lebensbedingungen und Lebensverhältnisse uns tiefere Einsicht verschaffen.

An sicheren Erfahrungen haben uns die Untersuchungen jedenfalls folgendes gebracht:

Es gelingt durch die Einspritzung in Meerschweinchen, reine Linien von Diphtheriebacillen aller ihrer typischen Eigenschaften zu berauben.

Dieser Abbau umfaßt alle Individuen und geht nach und nach vor sich, nicht sprunghaft.

Außer dem Endgliede, der Veränderung in allen 5 Punkten, werden alle Uebergänge und Zwischenstufen gefunden.

Die Veränderungen sind zum Teil reversibel, zum Teil irreversibel, alle sind sie retrogressiv und Genovariationen zu benennen.

Der bisher für Veränderungen bei Bakterien vielfach gebrauchte Name Mutation ist irreführend und daher zu verwerfen; echte Mutationen sind bisher bei Bakterien noch nie beobachtet worden.

Schrifttum.

- 1) Firtsch u. Gruber, Arch. f. Hyg. Bd. 8.
- 2) Roux et Yersin, Annales de l'Institut Pasteur. T. 2—4.
- 3) Neisser u. Massini, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1906. Beih.
- 4) Bernhardt u. Panneth, ebenda. Bd. 57. 1913. Beih.
- 5) Jakobsthal, ebenda. Bd. 34. Beih.
- 6) Gräf, ebenda. Bd. 57. Beih.
- 7) Trautmann u. Dale, ebenda. Bd. 47. Beih.
- 8) Dale, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 46.
- 9) Frosch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13.
- 10) Seiffert, ebenda. Bd. 71.
- 11) Burri, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28.
- 12) —, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 54.
- 13) de Vries, Die Mutationstheorie. Leipzig (Veit u. Co.) 1901—1903.
- 14) Kruse, Allgemeine Mikrobiologie. 1910.
- 15) Mühlmann, Arch. f. Hyg. 1909. Bd. 69.
- 16) Rosenow, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73.
- 17) Kraus u. Loewy, ebenda. Bd. 76.
- 18) Römer, Berlin. klin. Wochenschr. 1914.
- 19) Schmitz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 75.
- 20) Bernhardt, ebenda. Bd. 79.

Wegen weiterer Literaturangaben sei auf die letztgenannten Arbeiten (No. 19 und 20) verwiesen.



25) 117 MVI a 2 2. Zücht.



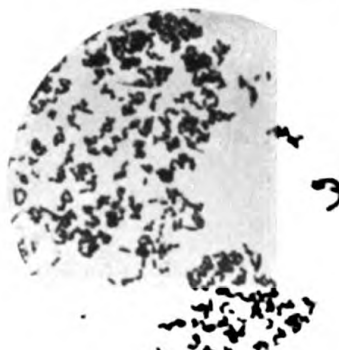
26) 117 MVI a 2 1 Jahr.



27) 131 VIII.



28) 131 MIV a 3 1. Zücht.



29) 131 MIV a 3 2. Zücht.



30) 131 MIV a 3 1 Jahr Fuchsinf.



31) 131 MIV a 3 1 Jahr Neisser-F.



32) 131 MIV a 4 1. Zücht.



33) 131 MIV a 4 2. Zücht.



34) 131 MIV a 4 3. Zücht.



35) 131 MIV a 4 4. Zücht.



36) 131 MIV a 4 5. Zücht.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



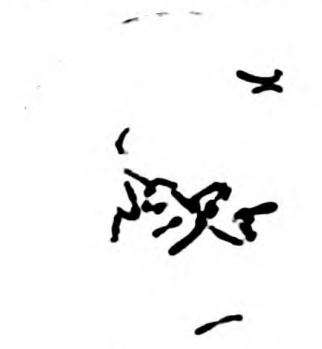
13) 117 M IV h 4 1. Zücht.



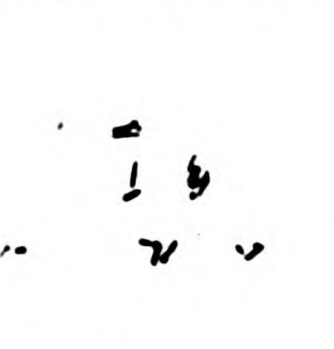
14) 117 M IV h 4 2. Zücht.



15) 117 M IV h 4 3. Zücht.



16) 117 M V c 1 1. Zücht.



17) 117 M V c 1 2. Zücht.



18) 117 M V c 1 2. Zucht. Neisser-F



19) 117 M V c 1 1 Jahr.



20) 117 M V c 1 1 Jahr Neisser-F.



21) 117 M VI a 1 1. Zücht.



22) 117 M VI a 1 2. Zücht.



23) 117 M VI a 1 1 Jahr.



24) 117 M VI a 2 1. Zücht.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



1) 117 VIII.



2) 117 MIV b 2 1. Zücht.



3) 117 MIV b 3 2. Zücht.



4) 117 MIV b 3 1. Jahr



5) 117 MIV b 3 1. Jahr Neisser-Färb.



6) 117 MIV c 4 1. Zücht.



7) 117 MIV h 2 1. Zücht.



8) 117 MIV h 2 2. Zücht.



9) 117 MIV h 2 α v. 14. X. 14.



10) 117 MIV h 2 α 1. Jahr.



11) 117 MIV h 2 β v. 17. X. 14.



12) 117 MIV h 2 β 1. Jahr.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Verzeichnis und kurze Beschreibung der Photographieen.

(Nach eigenen Aufnahmen vom Verfasser.)

Vergrößerung überall die gleiche, etwa 1000-fach.

Tafel I.

- Fig. 1. 117 VIII sehr lang, schlank.
 „ 2. 117 M IV b 2 1. Züchtung enorme Degenerationsformen. Verzweigungen!
 „ 3. 117 M IV b 3 2. Züchtung lang, sehr starr.
 „ 4. 117 M IV b 3 Nach 1 Jahr mittellang, sehr plump.
 „ 5. 117 M IV b 3 Nach 1 Jahr Neisser-Färbung ganz atypisch ausfüllend.
 „ 6. 117 M IV c 4 1. Züchtung ziemlich kurz, parallel und klumpend.
 „ 7. 117 M IV h 2 1. Züchtung mittellang, plump, Spindelformen.
 „ 8. 117 M IV h 2 2. Züchtung, kurz, plump.
 „ 9. 117 M IV h 2 α Vom 14. Okt. 1914 sehr kurz, plump.
 „ 10. 117 M IV h 2 α Nach 1 Jahr etwas länger, aber plump und klumpend.
 „ 11. 117 M IV h 2 β Vom 17. Okt. 1914 kurze und längere Formen. Spindelformen.
 „ 12. 117 M IV h 2 β Nach 1 Jahr ziemlich kurz, plump, klumpend.

Tafel II.

- Fig. 13. 117 M IV h 4 1. Züchtung sehr lange Degenerationskeulen.
 „ 14. 117 M IV h 4 2. Züchtung mittellang, Parallellagerung und klumpend.
 „ 15. 117 M IV h 4 3. Züchtung ganz kurz, plump.
 „ 16. 117 M V c 1 1. Züchtung große Degenerationskolben.
 „ 17. 117 M V c 1 2. Züchtung mittellange, plumpe und aufgetriebene Degenerationsformen.
 „ 18. 117 M V c 1 3. Züchtung Neisser-Färbung ganz atypische Riesenkörner, die dicken Degenerationsformen ganz blau. Viele Stäbchen negativ.
 „ 19. 117 M V c 1 Nach 1 Jahr kurze und lange Stäbchen, mächtige Kürbisformen.
 „ 20. 117 M V c 1 Nach 1 Jahr Neisser-Färbung. Degenerationsformen ganz blau. Körnchen unförmig groß, viele Stäbchen negativ.
 „ 21. 117 M VI a 1 1. Züchtung mittellang und kurz, plump.
 „ 22. 117 M VI a 1 2. Züchtung mittellang, plump, Spindelformen.
 „ 23. 117 M VI a 1 Nach 1 Jahr lang, typisch!
 „ 24. 117 M VI a 2 1. Züchtung lang, ziemlich typisch, etwas plump.

Tafel III.

- Fig. 25. 117 M VI a 2 2. Züchtung kurz, ganz pseudoartig, Parallellagerung.
 „ 26. 117 M VI a 2 Nach 1 Jahr lang, typisch!
 „ 27. 131 VIII lang, schlank.
 „ 28. 131 M IV a 3 1. Züchtung lang, typisch.
 „ 29. 131 M IV a 3 2. Züchtung Mehrzahl kurz, Parallellagerung.
 „ 30. 131 M IV a 3 Nach 1 Jahr Fuchsfärbung, Mehrzahl lang, plump.
 „ 31. 131 M IV a 3 Nach 1 Jahr Neisser-Färbung atypisch, ganz ausfüllend, einige Stäbchen negativ.
 „ 32. 131 M IV a 4 1. Züchtung eigentümliche Spindel- und Kürbisformen, viele schlecht färbbare „Schatten“.
 „ 33. 131 M IV a 4 2. Züchtung sehr plump.
 „ 34. 131 M IV a 4 3. Züchtung ziemlich kurz, aufgetriebene plumpe Formen, klumpend.
 „ 35. 131 M IV a 4 4. Züchtung mittellang und kurz, plump.
 „ 36. 131 M IV a 4 5. Züchtung noch stärker klumpend.

Nachdruck verboten.

Ein akuter Malleusfall beim Menschen mit positiver Blutkultur.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. k. Garnisonspitales No. 15 in Krakau (Kommandant: Oberstabsarzt Dr. W. Michl).]

Von Dr. J. Kostrzewski, k. k. Oberarzt i. d. Reserve, Krakau.

Die Mannigfaltigkeit des klinischen Verlaufes der Rotzkrankheit und die relative Seltenheit derselben in der Pathologie des Menschen machen die klinische Diagnose eines Malleus recht schwierig. Um so mehr kommt die bakteriologische Untersuchung in Betracht, durch die in manchen Fällen klinisch unklarer Erkrankungen die Diagnose eines Malleus erst allein durch den bakteriologischen Befund festgestellt werden kann. Für die bakteriologische Untersuchung dient das Sekret der Geschwüre und der Inhalt der Knoten, Abszesse und Pusteln. Bekanntlich ist es nicht immer leicht, den bakteriologischen Beweis auch für klinisch sichere Rotzkrankheit zu erbringen, sei es weil das untersuchte Material zu wenige Keime enthält, um sie in Strichpräparaten oder im Tierversuch (beides sind keine absoluten Beweise) nachzuweisen, oder weil die sonst ziemlich leicht auf den üblichen Nährböden in Laboratorien wachsenden Rotzbacillen, wenn sie vom Organismus auf künstliche Nährböden übertragen sind, in den ersten Generationen auf diesen schlecht oder gar nicht gedeihen, bevor sie sich an dieselben gewöhnen. Vom bakteriologischen Standpunkte aus betrachtet, bietet daher ein akuter Malleusfall des Menschen Interesse, den wir unlängst beobachtet haben. Seine Geschichte ist folgende:

F. K., Postwagenbegleiter bei einem Husarenregiment; seit 8. August 1915 bestehen Fieber und Gliederschmerzen; ungefähr zu dieser Zeit ist in der Gegend des oberen Teiles des Brustbeines eine schmerzlose Anschwellung entstanden. Der Kranke wurde auf die chirurgische Abteilung des Garnisonspitales in Krakau dirigiert. Am 17. August ergab die Untersuchung: Temp. 39° C; in der Gegend des Manubrium sterni die Haut rötlich verfärbt, derb infiltriert; bei der Inzision kam in der Tiefe des Infiltrates ein wenig dicken, gelblich-braunen Eiters zum Vorschein. Am 20. August derbes Infiltrat am rechten Oberarme und im Bereiche der Oberschenkel je eines beiderseits. Wegen Möglichkeit einer Septikopyämie wurden 8 ccm Blut auf 50 ccm Bouillon geimpft; da aber das gleichzeitige multiple Auftreten der derben Infiltrate Bedenken hervorrief und zum Verdacht auf Malleus führte, untersuchte ich den dicken, gelblich-braunen Eiter, der aus der Tiefe des Infiltrates am rechten Oberarme gewonnen wurde, folgendermaßen: Mit je einer vollen Oese dieses Eiters wurden 3 Glycerinagar und 3 Glycerinbouillons besät; außerdem wurden 3 Strichpräparate (ganze Oberfläche des Objektträgers) gemacht; das übrige, d. h. ca. 1 ccm des Eiters, wurde in 4 ccm steriler physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt und davon 2 1/2 ccm einem männlichen Meerschweinchen intraperitoneal einverleibt. In 2 von den 3 Strichpräparaten wurden einige Stäbchen gefunden; diese zeigten hellgelbe Körner, ihre Färbung war ungleichmäßig, unterbrochen. Die Stäbchen waren zwei- bis dreimal so groß, wie die Rotzbacillen von einer frischen Agarkultur. Am 21., 22. und 23. August wurden die am 20. August mit Eiter und Blut besäten Nährböden steril befunden; der Tierversuch war negativ. Es waren also 3mal 24 Stunden nach dem Anfange der bakteriologischen Untersuchung auf Malleusbacillen nur in den 2 Strichpräparaten vom 20. August einige verdächtige Stäbchen gefunden worden. Am 22. August wurde vergebens in einigen Strichpräparaten aus dem Eiter eines anderen Knotens (als dem vom 20. August) nach Malleusbacillen oder sonstigen Bakterien gesucht; alle übrigen Verfahren sind negativ geblieben. Zu dieser Zeit aber hatte sich schon klinisch das ganz ausgeprägte Bild eines Malleus ausgestaltet; es traten neue, tiefe In-

filtrate an Ober- und Unterschenkeln auf, und hier und da kamen auf der Haut des ganzen Körpers erbsengroße Papeln zum Vorschein, deren Mehrzahl am 23. August zu Pusteln geworden ist. An demselben Tage wurden 10 ccm Blut auf 50 ccm Bouillon geimpft; am 24. August sind viele frische Papeln aufgetreten, viele alte vereitert, und viele Knoten in Abszesse übergegangen. Am Abend dieses Tages starb der Kranke. Das Protokoll der am 25. August vorgenommenen Sektion (Regimentsarzt Dr. Skola) lautet: Abscess. subcutan. et intramuscul. corpor. totius; papulae et pustulae cutan., nonnul. nodi malleos. pulmon. utriusque; bronchopneumon. catarrh. ambilat.; pleuritis fibrinosa; tumor lienis acutus. Malleus. Bei der Sektion wurde von einigen Abzessen Eiter gesammelt und zusammengemischt, von diesem wurde eine dicke Aufschwemmung in steriler physiologischer NaCl-Lösung gemacht und intraperitoneal einem männlichen Meerschweinchen einverleibt; mit derselben Eiteraufschwemmung wurden 3 Glycerinkartoffeln und 3 Glycerinagar besät. Die an demselben Tage vorgenommene Untersuchung der Bouillonkolben, von denen der eine am 20. August mit 8 ccm Blut, der andere am 23. August mit 10 ccm Blut besät wurde, ergab eine reichliche, reine Stäbchenkultur; nähere Untersuchung stellte fest, daß es sich um *Corynebacterium mallei* handelt. Besonders üppig war die Kultur in dem am 23. August besäten Kolben; in der einen und anderen Kultur war typische Fadenbildung vorhanden, und in beiden waren Bacillen von großen Dimensionen, wie auch kokkenähnliche Exemplare nebeneinander vorhanden.

Wir haben den Gang der bakteriologischen Untersuchung und zugleich das Wichtigste vom klinischen Verlauf des betreffenden Falles ausführlicher dargestellt, um einerseits den Unterschied in dem Erfolge der Untersuchung des Eiters und des Blutes hervorzuheben und anderseits wieder, um auf das Krankheitsstadium, in welchem die positive Blutkultur erzielt wurde, hinzuweisen.

Zusammenfassung:

In unserem Falle wurde zweimal der Eiter, jedesmal von einem anderen Knoten, entnommen, mit negativem Erfolge untersucht, wogegen zu dieser Zeit das Blut, zweimal geimpft, jedesmal positive Rotzbacillenreinkultur ergab. Die Untersuchung des Blutes fällt in das Stadium, in welchem die allgemeine Infektion des Organismus mit Malleusbacillen durch multiples Auftreten der Knoten und Papeln deutlich ausgeprägt war. Die am 25. August mit dem bei der Sektion gesammelten Eiter angestellten Untersuchungen sind am 28. August bzw. 29. August positiv ausgefallen, und zwar sowohl die Kulturen als auch der Tierversuch.

Ueber das Züchten des *Corynebacterium mallei* aus dem Blute liegen in der Literatur nur spärliche Publikationen vor, und zwar betreffen sämtliche die Tierpathologie.

Krakau, 15. Oktober 1915.

Nachdruck verboten.

Antwort auf die Erwiderung Prof. Dr. E. Fraenkels in Heft 4. Bd. 77 dieses Centralblattes.

Von Prof. Dr. **Gustav Pommer**, Innsbruck.

E. Fraenkel hat meine sachlich und maßvoll gehaltenen Bemerkungen zu seiner Arbeit „Ueber malignes Oedem“ mit persönlichen und ungebührlichen Aeüßerungen erwidert, in denen er sie als „gänzlich irreführende Behauptung“ und als „absolut falsch“ und als „ganz unmotivierte, durch keinerlei durch eigene Untersuchung gestützte Angriffe“ bezeichnet und damit abtun zu können glaubt.

Ich weise die Ungebührlichkeit, die mir nicht Recht und Pflicht zuzubilligen und mich „nicht als berufen“ anerkennen möchte, die Sache der Wahrheit zu verteidigen und Emanuel v. Hibliers hohe Verdienste um die Anaërobenforschung vor Uebergang und Unterdrückung zu schützen, hiermit auf das Entschiedenste zurück.

Weder aus E. Fraenkels Arbeit „Ueber malignes Oedem“, noch aus seiner Erwiderung läßt sich entnehmen, daß er sich bei seinem abschließenden Urteil über die in wissenschaftlicher und praktischer Beziehung bewährte und anerkannte Methode der Anaërobenzüchtung mittels des v. Hiblierschen Hirnbreinährbodens auf eigene Untersuchungen berufen kann. „Ganz unmotiviert und absolut falsch“ — um E. Fraenkels Ausdrücke zu gebrauchen — ist es zu nennen, daß er diesen Hirnbreinährboden als „keineswegs geeignet“ erklärt, „pathogene anaërobe Bakterien differentiell-diagnostisch auseinanderzuhalten“.

E. Fraenkel behauptet auch, ich hätte „lediglich Ansichten“ des angeblich auch von ihm „geschätzten“, in Wirklichkeit aber zu wenig beachteten Anaërobenforschers v. Hibler wiedergegeben. Ich habe jedoch die einschlägigen Tatsachen, die sich bei den exakten Untersuchungen E. v. Hibliers ergaben — durch E. Fraenkels Arbeit dazu genötigt — in Erinnerung gebracht, um sie vor der Gefahr zu bewahren, totgeschwiegen zu werden.

In irreführender Weise versucht E. Fraenkel den Anschein zu erwecken, daß er meine Auseinandersetzungen über die Frage, ob der von ihm gefundene Bacillus identisch mit dem Ghon-Sachsschen und von dem echten Kochschen Oedembacillus zu trennen ist, durch eine Wiederholung des hierüber in seiner Arbeit Vorgebrachten „widerlegen“ könnte, wenn er nur „wollte“. Wie meine Bemerkungen eingehend nachwiesen, fehlt den Ergebnissen der Arbeit Fraenkels zu solcher Widerlegung völlig die Eignung.

Endlich muß auch als eine gänzlich irreführende Behauptung bezeichnet werden, daß E. Fraenkel angesichts der ganzen Sachlage die Auffassung „absolut falsch“ nennt, die seiner Arbeit die Absicht beimißt, die Annahme einer Immunität des Menschen gegen das maligne Oedem zu widerlegen, und in ihr auch eine Polemik gegen die Differentialdiagnose E. v. Hibliers zwischen dem Ghon-Sachsschen Bacillus und dem Bacillus des malignen Oedems (Koch) gegeben findet. Derartige Ausflüchte auf Grund der Ausführungen der Arbeit E. Fraenkels selbst, als ganz unhaltbar zu kennzeichnen, wäre eine leichte Aufgabe.

Nachdruck verboten.

**Putride, durch einen bisher unbekannten Anaërobier,
Bacillus anaërobius haemolysans, verursachte
Mundinfektion¹⁾.**

Von Dr. Wl. N. Markoff,

Abteilungsvorsteher am Hygienischen Institut in Sofia.

Mit 1 Figur im Text.

Auf Veranlassung des Leiters der chirurgischen Abteilung im Alexander-Krankenhaus in Sofia, Herrn Dr. Petroff, untersuchte ich bakteriologisch eine bisher unbekannte putride Infektion bei einer Frau B. Die Infektion der Pat. trat auf, nachdem man ihr 6 Prämolaren ohne Pause ausgezogen hatte. Da die Resultate der bakteriologischen Untersuchungen für die Aetiologie der Mundinfektionskrankheiten von Interesse sind, sei es mir gestattet, hier kurz meine Beobachtungen mitzuteilen.

Bezüglich der speziellen Literatur über die Mundinfektionserreger verweise ich auf Kutscher (1), Miller (2), Hibler (3), Werdet (4, 5), Ghon und Mucha (6), Lehmann und Neumann (7), Burchardt (8), Rippert (9), Miquel und Gambier (10), Matzschita (11), Markoff (12) etc.

Das Material, das mir zur Verfügung gestellt wurde, bestand in Stücken von weichen Teilen der Mundhöhle, die von schmutzig-roter Farbe und stinkend waren.

Mikroskopische, nach Gram und Giemsa angefertigte Präparate zeigten eine sehr verschiedenartige Bakterienflora. Auffallend waren darunter kurze, 1- bis 2-gliedrige, grampositive Stäbchen, die denen der Rauschbranderreger auffallend ähnlich waren.

I. Histologische Befunde.

Paraffinblock. Das Gewebe war bis zur Unerkennbarkeit verändert und stellte eine homogene Masse dar, in der zellige Elemente nicht nachzuweisen waren; in ihr waren nach allen Richtungen zerstreut hauptsächlich grampositive, zum Teil aber auch gramnegative Stäbchen sichtbar.

Zwecks Reinzüchtung des unbekannten Infektionserregers wurden von dem betreffenden Material aërobe bzw. anaërobe Platten und Schüttelagarkulturen angelegt; um besseres Wachstum zu erzielen, setzten wir dem gewöhnlichen Agar 0,5 Proz. Traubenzucker sowie Normalpferdesera 3:7 zu. Nach 24—48-stündigem Verweilen der Kulturen bei 37,5° C wurden die Kolonien makroskopisch und mikroskopisch auf Form und Aussehen geprüft. Die Kolonien wurden dann weiter in flüssigen und festen Nährböden rein kultiviert. Als flüssiges Nährmedium hat sich die Martinische Bouillon am besten bewährt.

Ohne weiter auf Einzelheiten einzugehen, wollen wir gleich betonen, daß es uns gelungen ist, 3 verschiedene Mikroorganismen herauszuzüchten:

1) Einen grampositiven Diplococcus ohne besondere biologische, kulturelle und pathogene Eigenschaften.

¹⁾ Die ausführliche Abhandlung über diese Arbeit befindet sich in der Kgl. Bulg. Akademie für Kunst und Wissenschaft zu Sofia.

2) Einen kommaähnlichen Bacillus, der sich nach Gram nicht färbte, der aber leider schon bei der zweiten Abimpfung in Strichkultur einging¹⁾).

3) Ein grampositives Stäbchen, das sich durch große Pathogenität für alle Versuchstiere auszeichnete, ferner durch seine Anspruchslosigkeit bei der Kultivierung, sowie seine außerordentlich große Lebensfähigkeit und das streng obligat anaërob war.

Impfversuche an Meerschweinchen und Kaninchen riefen die gleichen pathologisch-anatomischen Veränderungen bei den Versuchstieren hervor, wie das ursprüngliche Material von Frau B.; es wurde überdies von dem Serum der Patientin von 1:80 agglutiniert. Als normales Kontrollserum verwendeten wir das von uns selbst gewonnene, mit dem wir eine Agglutination noch höher als 1:10 erreichten.

Die infolge der künstlichen Infektion eingegangenen Tiere zeigten mehr oder weniger Emphysem unter der Bauchdecke, bei Kaninchen an der Impfstelle Neigung zu ausgesprochener Nekrose, bei Meerschweinchen dagegen starke Verdickung der Subcutis. Die Veränderungen am Unterhautbindegewebe bestanden in einer hämorrhagischen, durch Gasbildung ausgezeichneten Entzündung. An diesen Stellen sah das Bindegewebe aus, als wäre es mit einem stumpfen Messer abgeschabt worden. Die an den Extremitäten liegenden Lymphdrüsen waren zum Teil vergrößert und mit einer sulzig-blutigen Infiltration durchsetzt; Peritoneum diffus gerötet; Darmtraktus ohne auffallende Veränderungen; Leber wie gekocht, Milz unverändert, Lunge und Nieren schwach gerötet.

Von Interesse waren der chronische Verlauf der Infektion und die Sektionsbefunde bei den Kaninchen, die mit dem Originalmaterial der Frau B. und Reinkulturen geimpft waren. Hier sei noch erwähnt, daß das durch das Material von der Patientin hervorgerufene Krankheitsbild an dem Kaninchen, wenn auch lokaler, doch intensiver erschien, als das durch den reingezüchteten Infektionserreger hervorgerufene. Gleich am 1. Tage der Impfung wurde eine Entzündung mit schmerzhafter Infiltration festgestellt. Am Ende der 1. Woche begannen sich kettenartige Narben zu bilden, die deutlich unter der Haut zu fühlen waren. Darauf folgte zum Teil eine eitrige Einschmelzung der letzteren, die zu einer Nekrose der in der Umgebung gelegenen Gewebe führte. Gewöhnlich senkte sich der angesammelte Eiter unter der Haut der Bauchdecken, wo die letztere abszedierte, worauf allmählich Heilung erfolgte.

Wurde die Haut freipräpariert, so waren die Veränderungen hauptsächlich in der Umgebung der Bauchmuskulatur festzustellen. Wie aus der Abbildung zu ersehen ist, findet man hier eine körnige Masse von graugelber bis schokoladenähnlicher Farbe, die bei näherer Betrachtung aus hier und da angesammelten Eiterkörperchen bestand und unter Bildung eines glasigen, durchsichtigen Häutchens intensiv blutrote, bis zu 2 mm breite Streifen bildete, die zerfallene und intakte Blutkörperchen enthielten.

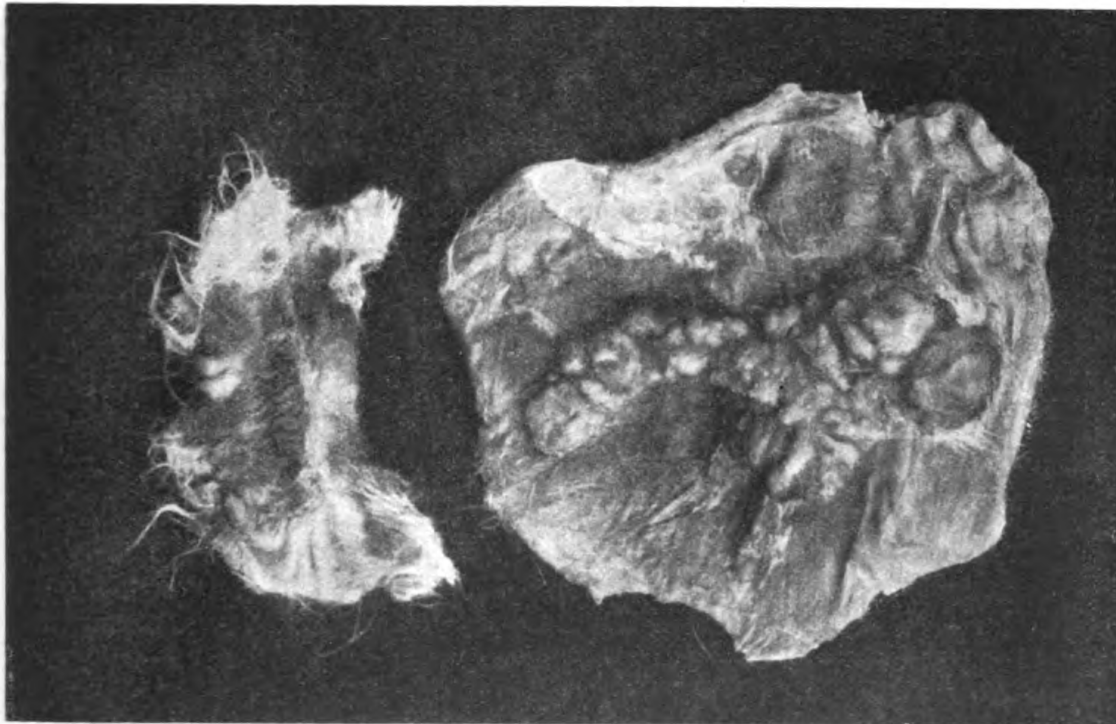
An der Herzmuskulatur: Dunkelwerden der Herzmuskelfasern. Schnitte von Paraffinblöcken aus der Muskulatur der geimpften Meerschweinchen wurden nach Gram gefärbt und zeigten die grampositiven Bacillen in größeren und kleineren Herden oder einzeln. Ketten-

1) Gelegentlich einer in Sofia stattgefundenen Zusammenkunft des Verf. mit Prof. Mühlens vom Tropenhygienischen Institut zu Hamburg kam zu tage, daß dieser kommaähnliche Bacillus identisch mit einem von Prof. Mühlens in 7 Generationen gezüchteten Bacillus sei.

bildung war nie festzustellen, auch nicht in Abklatschpräparaten der inneren Oberfläche des Peritoneums, der Leber und der übrigen inneren Organe. In dieser Beziehung verhielt sich der Anaërobier wie der echte Rauschbranderreger.

II. Bakteriologische Befunde.

1) Im hängenden Tropfen: 18-stündige Bouillonkultur. Die 3—4 μ langen und 0,5—0,7 μ breiten, mit abgerundeten Enden versehenen, am Rande angeordneten Bacillen zeigen starke molekulare Bewegung, so daß ihre Beweglichkeit nur schwer festzustellen ist. Im Anfange der Isolierung war die Bewegung deutlich, bei den späteren Generationen aber fast nicht mehr.



2) Züchtung in Bouillon ohne Luftzutritt: Ziemlich starkes Wachstum. Gasbildung und schwache, wolkenähnliche Trübung. Das in der Kultur angesammelte Gas ruft in der Flamme Explosion hervor; es riecht wie verfaulte Eier! Die schwach alkalische Reaktion des Nährbodens wird sauer. Keine Sporenbildung.

3) StICKkultur in Gelatine: Wachstum nach 3—4 Tagen bei Zimmertemperatur 1½ cm unter der Oberfläche des Nährbodens. Die punktförmigen Kolonien rufen allmähliche Schmelzung der Gelatine hervor. In älteren Gelatinekulturen sind massenhafte ovale und zarte Bacillen mit endständigen Sporen festzustellen.

4) StICKkulturen in Agar zeigen bei Zusatz von Serum starke Gasbildung nach 24 Stunden, sonst wie Gelatinekultur.

5) Die oberflächlichen Agarkolonien in den Petri-Schalen sind sehr zart und erinnern sehr an diejenigen des Rauschbrandbacillus.

6) Im Gehirnbrei keine Schwarzfärbung.

7) Milch wird in 24 Stunden bei 37,5° C zu starker Gerinnung gebracht; amphotere Milchreaktion wird deutlich sauer; keine Peptonisierung der Milch.

8) Bei Züchtung in flüssigen, kohlehydrathaltigen Nährböden werden alle Zuckerarten stark vergoren, nur Mannit verhältnismäßig schwächer.

9) Neutralrot: Starke Opaleszenz mit Gasbildung.

10) In Lackmusmolke nach Petruschky auffallend starke Reduktion; der Nährboden wird ganz entfärbt.

11) Starke Bildung von H₂S.

12) Nach der Methode von Salkowsky und Ehrlich keine Indolbildung (in mehr als 48 Stunden alten Kulturen).

13) Bei aerober Züchtung unseres grampositiven Bacillus in 10 cm Traubenzuckeragar (0,5-proz.) mit Zusatz von 2—2½ defibrinierten Hammelblutkörperchen in Petri-Schalen entwickelten sich nach 48-stündigem Verweilen bei 37,5° C Kolonien, die eine starke Hämolyse bewirkten.

14) Toxinbildung: 14 Tage alte Filtrate aus Martini-Bouillonkulturen töten in großen Mengen bei intraperitonealer Impfung Meerschweinchen in 3 Tagen; subkutane Impfung hatte keinen Effekt.

Zusammenfassung.

1) Die chronische, putride Infektion bei Frau B. ist einem bisher unbekannten Anaërobier zuzuschreiben, dem *Bacillus anaërobius haemolysans*.

2) Die Mundinfektion ist entweder durch die Nahrung, durch unsaubere Hände oder durch nicht genügend desinfizierte Instrumente des Zahnarztes verursacht worden.

3) Die bakteriologischen Untersuchungen haben ergeben:

- a) Grampositive, streng anaërobe Stäbchen,
- b) Gas- und Sporenbildung in älteren Gelatine- und Agarkulturen.
- c) Starke Hämolyse bei aerober Züchtung in traubenzuckerhaltigem Agar,

d) im Tierkörper bilden sich keine Ketten,

e) Pathogenität für Menschen, Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse.

Literatur.

- 1) Kutscher, Normale Mundflora. (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathogen. Mikroorganismen. 2. Aufl. Bd. 6.)
- 2) Miller, Mikroorganismen der Mundhöhle. 1. Aufl. Leipzig 1897.
- 3) Hibler, Untersuchungen pathogener Anaërobier. Jena 1908.
- 4) Werdet, Gasbrand. (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathogen. Mikroorganismen. 2. Aufl. Bd. 4.)
- 5) —, Malignes Oedem. (Ebenda p. 839.)
- 6) Ghon und Mucha, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 15. p. 41; Bd. 49. p. 493.)
- 7) Lehmann und Neumann, Bakteriologisches Diagnostikum. Bd. 10. Teil II. 5. Aufl. München 1912.
- 8) Burchardt, Pathology and therapeutic. London 1905.
- 9) Rippert, Allgem. Pathol. u. pathol. Anatomie. 3. Aufl. Leipzig 1908.
- 10) Miquel et Gambier, Traité de bactériologie pure et appl. Paris 1902.
- 11) Matzschita, Bakteriologisches Diagnostikum. Jena 1912.
- 12) Markoff, Vergleichende bakteriologische und serologische Studien über Rauschbrand und Pseudorausbrand. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60. 1911. p. 188.)

Nachdruck verboten.

Ueber eine Rückfallfieberepidemie.

Von Dr. M. Luft,

Leiter der bakteriologischen Untersuchungsstelle eines Seuchenlazarettes
auf dem östlichen Kriegsschauplatze.

Mit 4 Textfiguren und 8 Fieberkurven.

Am 6. Juli 1915 wurden in unserem Seuchenlazarett 26 russische Gefangene und 4 Begleitmannschaften unter Fleckfieberverdacht eingeliefert. Durch das Ausfragen der Gefangenen und der Begleiter konnte festgestellt werden, daß sich die ersten Symptome der Erkrankung bei einzelnen Patienten ungefähr am 25. Juni (heftige Kopf- und Brustschmerzen) bemerkbar machten. Alle Gefangenen hatten am Körper und in den Kleidern Läuse, am Körper waren Läusestiche und Roseolen sichtbar; sie litten in den letzten Monaten stets unter dem Ungeziefer. Die Begleitmannschaften hatten keine Läuse, sie sind auch von der Krankheit verschont geblieben.

Sofort nach der Entlassung der Patienten habe ich bei einigen Fieberfällen im Blute die lebhaft beweglichen, korkzieherartig gewundenen Recurrens-Spirillen (*Spirosoma Obermeieri*) festgestellt.

Die Krankheit hatte einen epidemischen Charakter; zunächst wurden bei 3 Russen Recurrens-Spirochäten im Blute festgestellt, 3 Tage darauf bei 2 weiteren Patienten, die bisher gesund waren, nach weiteren 2 Tagen bei 1, an folgenden Tagen war bei je einem weiteren Patienten das Ergebnis positiv. Bei einigen von diesen Fällen konnte gleichzeitig Malaria tertiana bzw. quartana bakteriologisch festgestellt werden.

Trotz der Feststellung des Krankheitserregers war das gleichzeitige Vorliegen des Fleckfiebers nicht ausgeschlossen, da bekanntlich epidemiologisch das Rückfallfieber sehr nahe mit dem Fleckfieber zusammengehört. Beide Erkrankungen werden in gleicher Weise durch infiziertes Ungeziefer übertragen, und früher sind auch öfters beide Epidemien gleichzeitig sehr intensiv aufgetreten. Das Krankheitsbild ist auch bei beiden sehr ähnlich. Nach einer Inkubationszeit von 1—2 Wochen und nach seltenen Prodromalerscheinungen folgt ein schwerer Krankheitsausbruch (heftiger Schüttelfrost, dann eine hohe Continua). Für das Rückfallfieber und Fleckfieber ist ein influenzaartiges Initialstadium¹⁾ sehr charakteristisch, bestehend aus Reizhusten, Bronchitis, Pneumonie, Kopf-, Kreuz- und Gliederschmerzen. Auch bei Recurrensfieber erscheinen manchmal, besonders in schweren Fällen, auf der Haut Petechien, die an das petechiale Stadium des Exanthems bei Fleckfieber erinnern. Bei beiden tritt eine febrile Albuminurie auf; oft kommt es zu einer hämorrhagischen Nephritis. Während aber bei Fleckfieber die Ehrlichsche Diazoreaktion meist stark positiv ist²⁾, blieb sie in den unten beschriebenen Fällen des Rückfallfiebers in allen Stadien der Krankheit negativ.

Auch von Malaria ist bekannt, daß sie — besonders *Plasmodium vivax* — zugleich mit Rückfall- und Fleckfieber bei ein und demselben

1) Brauer, Die Erkennung und Verhütung des Flecktyphus und Rückfallfiebers 1915.

2) Brauer, l. c.

Menschen auftritt. Dieses ist auch bei der vorliegenden Epidemie des Recurrensfiebers vorgekommen.

Die morphologische Untersuchung des Blutes bei Fleck- und Rückfallfieber ergibt ebenfalls manche Aehnlichkeit der Veränderungen. In beiden Fällen kommt es bekanntlich zur Verminderung der Erythrocytenzahl und des Hämoglobingehaltes, ferner besteht Leukocytose. Bei Recurrens ist die Leukocytenzahl gewissermaßen eine Funktion der Spirochätenzahl. Bei beiden Krankheiten wurde in gewissen Stadien eine Leukopenie (bei Recurrensfieber während der Apyrexie) beobachtet.

Während man im jetzigen Kriege unter den Kriegsseuchen der einen von den beiden, nämlich dem Fleckfieber, die größte Aufmerksamkeit schenkt und schenken muß, ist die Bedeutung und die Gefahr des Rückfallfiebers, wenn es allein auftritt, dank der Salvarsantherapie sehr gering geworden. Welche furchtbare Rolle jedoch diese Kriegsseuche neben Fleckfieber in den früheren Jahrzehnten bei den Truppenbewegungen unter ungünstigen sanitären Verhältnissen gespielt hat, ersieht man aus einigen statistischen Angaben¹⁾:

Im russisch-türkischen Kriege (1877—1878) erkrankten nach den amtlichen Angaben in der russischen Donauarmee:

an Rückfallfieber	39 337 = 66,43 Prom. mit	4 849 = 8,18 Prom. Todesfällen
„ Fleckfieber	32 451 = 54,80 „ „	10 081 = 17,02 „ „

In der russischen Kaukasusarmee erkrankten damals:

an Rückfallfieber	14 576 mit	3 775 Todesfällen,
„ Fleckfieber	15 660 „	6 506 „

Während der russischen Expedition gegen die Turkmenen (1880—1881) kamen unter 12 000 Mann

an Rückfallfieber	758
„ Fleckfieber	185

Erkrankungen vor.

In Odessa soll das Rückfallfieber (zusammen mit Fleckfieber) besonders bei Kindern ständig auftreten.

In Preußen trat Rückfallfieber, aus Rußland eingeschleppt, früher öfters auf²⁾. Zuletzt kamen im Jahre 1908 2 Fälle (Laboratoriumsinfektionen) vor. In den deutschen Kolonien kommt Recurrens oft vor und wird durch Zecken³⁾, nach R. Koch durch *Ornithodoros moubata*, übertragen.

Bei der vorliegenden Erkrankung der russischen Soldaten wurde allmählich einwandfrei festgestellt, daß sie Rückfallfieber ist, bei einigen Patienten mit Malaria, bei einem mit Malaria und Lues verbunden.

Die bakteriologische Untersuchung der pathogenen Blutparasiten, besonders der Recurrens-Spirochäten, wurde gleichzeitig in mehreren Richtungen in üblicher Weise ausgeführt:

1) Mikroskopisch: gefärbte Ausstriche von dem in allen Stadien des Fiebers entnommenen Blute der Erkrankten. Untersuchung der ausgebreiteten Tropfen in der Dunkelfeldbeleuchtung.

2) Kulturversuche: anaërob in Pferdeserum-Nähragar.

3) Tierversuche: frisches Patientenblut (aus der Vena mediana), in welchem die Anwesenheit von Recurrens-Spirochäten zugleich nachgewiesen wurde, wird frisch am Krankenbett einer Maus steril subkutan eingespritzt.

1) Niedner, Die Kriegsepidemien des 19. Jahrhunderts. 1903.

2) Guttstadt, Flecktyphus und Rückfallfieber in Preußen. 1882.

3) Jochmann, Lehrbuch der akuten Infektionskrankheiten. 1914. — Kolle-Wassermann, Handbuch d. pathogenen Mikroorganismen. Bd. VII.

4) Die Untersuchung des Blutes bei einzelnen Patienten nach der Einspritzung von Salvarsan während der Continua.

5) Die bei den Patienten nach der Ankunft gesammelten Läuse bzw. solche, die während der Krankheit in der Fieber-Continua an dem Körper des Patienten Blut gesaugt haben, werden nach Recurrens-Spirochäten bzw. nach dem Uebertragungsvermögen derselben untersucht.

6) Harn-, Stuhl- und Auswurfuntersuchung.

Die Besprechung des klinischen Bildes der Fälle soll, als zu weit führend, hier nicht geschehen. Das Verhalten der Recurrens-Spirillen unter der Salvarsanwirkung im menschlichen Blute, dann die Frage ihres Bestehens und Entwicklungsvermögens in den Läusen sollen einer weiteren Veröffentlichung unter Berücksichtigung eines eventuellen neuen Beobachtungsmaterials vorbehalten bleiben.

An Hand der Fiebertafeln soll nun das bei den einzelnen Patienten bei jedem Relaps beobachtete Material kurz zusammengestellt werden:

I. (Fieberkurve I), 28 Jahre alt.

1) Blutentnahme aus der Fingerkuppe in der Continua (Temp. 39,2°) am 8. Juli mittags. Im gefärbten Ausstrich (gefärbt nach Pappenheim) zahlreiche Recurrens-Spirillen, sehr vereinzelte Quartanschizonten gefunden.

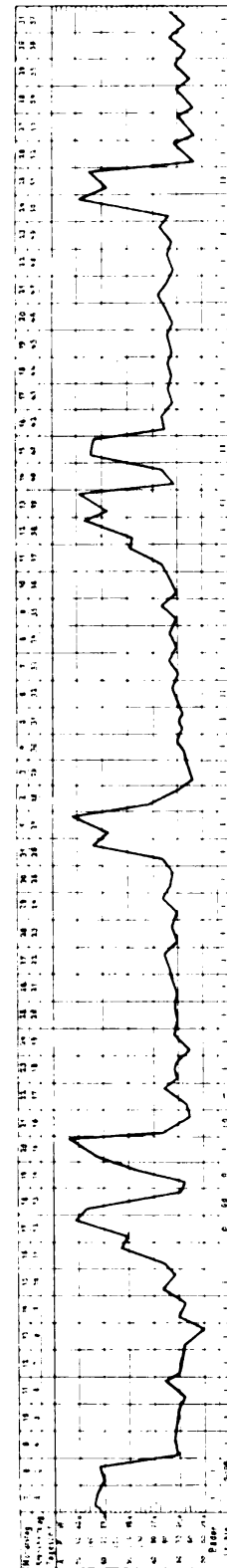
2) Blutentnahme nach dem Abfall des Fiebers am 11. Juli nachmittags (Temp. 36,6°). In Burri-Präparaten nichts Besonderes gefunden; im hängenden Tropfen keine Spirillen, in gefärbten Präparaten (nach Giemsa und Pappenheim) keine Spirillen (auch keine Plasmodien) vorhanden; denn zur Zeit der Apyrexie verschwinden die Spirochäten aus dem Blute.

3) Zweiter beobachteter Anfall am 17. Juli.

Blutentnahme bei 40,1°. Im Dunkelfeld unbewegliche Spirochäten, im Tuschepräparat, wie auch im gefärbten Blutausrich, vereinzelte Spirochäten gefunden.

4) Im Blut vom 20. Juli (Temp. 40,3°) wurden keine Spirochäten gefunden. Das Fieber wird zur Zeit der Krise nicht durch die Erreger selbst, sondern die Intoxikation durch Endotoxine der zerfallenen Erreger verursacht.

5) Bei folgenden Anfällen am 26. und 37. Krankheitstage erscheinen zahlreiche Spirochäten. Am 41. Krankheitstage erscheinen im Hängetropfen vereinzelte Spirillen ohne Bewegung, keine Teilungsstadien sind bemerkbar. In den Ausstrichpräparaten sieht man einzelne Spirillen, auch charakteristische bekannte Gruppen derselben. Zugleich treten in den Erythrocyten Plasmodien der Malaria quartana auf: verein-



Fieberkurve I.

zelte Ringe, zahlreiche Pigmentkörner, keine Bänder sichtbar (keine Vergrößerung und Entfärbung der Blutkörperchen).

Es bleibt noch zu bemerken, daß am 27. Krankheitstage in der Continua bei der Temperatur $40,2^{\circ}$ im Hängetropfen in der Dunkelfeldbeleuchtung bei zahlreichen Spirillen die Querteilung beobachtet wird (Fig. 1).

Das fadenförmige Stadium in der Mitte ist nur schwach leuchtend, im Gegensatz zu den beiden Tochterhälften. Der ganze Teilungsprozeß bei einzelnen Individuen dauert 10–15 Minuten.



Fig. 1.

Am 50. Krankheitstage tritt der letzte Relaps mit denselben Erscheinungen wie oben ein. Patient bleibt dann gesund und wird nach mehreren fieberfreien Wochen entlassen.

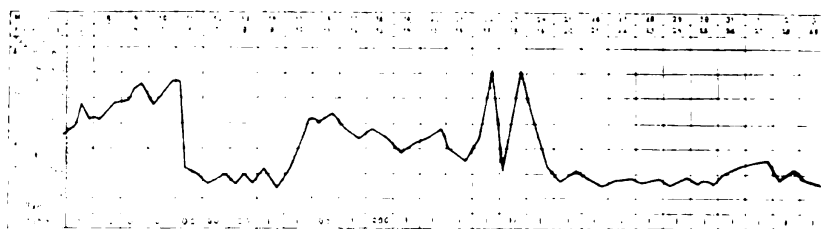
II. (Fieberkurve II), 21 Jahre alt.

1) Blutentnahme beim Anstieg des Fiebers (Temp. $38,4^{\circ}$) am 8. Juli mittags. Im Ausstrich zahlreiche Spirochäten, sehr vereinzelt und undeutlich Quartana-Plasmodien vorhanden. Urin reagiert sauer, spez. Gew. 1,024, von fleischroter Farbe, Albumin positiv, Diazoreaktion negativ.

2) Abfall des Fiebers am 11. Juli nachm. ($36,0^{\circ}$). Hängender Tropfen: nichts Besonderes. Im Ausstrich keine Spirillen und Plasmodien.

3) Am 15. Juli neue Fieberperiode: keine Spirillen gefunden.

4) Am 22. Juli Blutentnahme bei $40,2^{\circ}$. In allen Präparaten zahlreiche Recurrens-Spirillen vorhanden. Im ausgebreiteten Tropfen (ver-



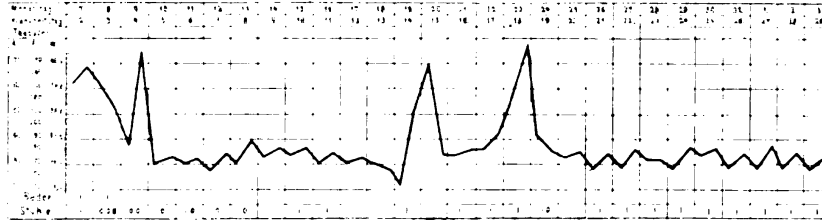
Fieberkurve II.

dünnt mit physiologischer Kochsalzlösung) kann man die Beweglichkeit und Teilung der Spirillen bei Zimmertemperatur sogar nach einigen Stunden in ein und demselben Präparat beobachten. Die Lebensfähigkeit der Erreger ist in allen Schichten des Tropfens, auch an der Luftgrenze, gleich groß. Nach diesem Anfall bleibt der Patient gesund.

Während der Krankheit traten bei diesem Patientenluetische Erscheinungen stark hervor. Nach seinen eigenen Angaben hat er vor 2 Jahren eine Quecksilberkur durchgemacht und war seit damals bis zum Anfall des Rückfallfiebers gesund. Die positive Wassermannsche Reaktion ist in diesem Falle für Lues nicht beweiskräftig.

III. (Fieberkurve III), 22 Jahre alt.

- 1) Blutentnahme bei $38,8^{\circ}$ am 8. Juli mittags. Im Ausstrich zahlreiche Spirillen und sehr vereinzelt *Plasmodium vivax* vorhanden.
- 2) Nach dem Abfall am 11. nachm. ($36,1^{\circ}$) nichts gefunden.

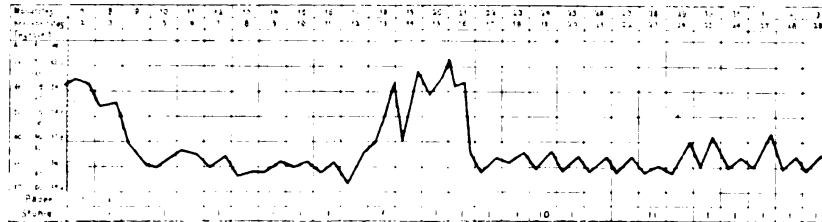


Fieberkurve III.

- 3) Bei den folgenden Fieberanfällen am 15. und 19. Krankheitstage habe ich keine Spirillen gefunden. Sehr vereinzelt sind Pigmentkörner der Tertianschizonten in den Erythrocyten sichtbar. Nach entsprechender Behandlung wird der Patient als gesund entlassen.

IV. (Fieberkurve IV), 27 Jahre alt.

- 1) In der Apyrexie ($36,6^{\circ}$) am 11. Juli nachm. im Blute nichts gefunden.
- 2) Am 13. Krankheitstage tritt ein neuer Fieberanfall ein. Blutentnahme bei $39,3^{\circ}$: Spirochäten vorhanden. Auch am nächsten Tage

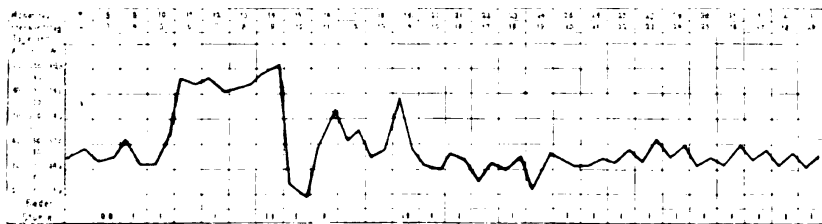


Fieberkurve IV.

finden sich in dem bei $39,8^{\circ}$ entnommenen Blute Spirillen, von denen zahlreiche unbeweglich sind. Am nächsten Tage (Temp. $40,2^{\circ}$) sind sie aus dem Blute verschwunden (perturbatio critica). Der Patient wurde gesund.

V. (Fieberkurve V), 24 Jahre alt.

- 1) Beim Anstieg des Fiebers ($39,3^{\circ}$) wurde am 11. Juli nachm. das Blut entnommen und nach Giemsa und Pappenheim gefärbt: vereinzelt Spirillen gefunden.



Fieberkurve V.

- 2) Blut in der Continua ($39,4^{\circ}$) am 13. Juli nachm. entnommen. Im flach ausgebreiteten Tropfen (mit Kochsalzlösung verdünnt) sind bei

Dunkelfeldbeleuchtung stark vibrierende, typische Recurrens-Spirillen bemerkbar, welche sich frei zwischen den Erythrocyten korkzieherförmig bewegen. Teilungsstadien wie in der Fig. 1 waren sichtbar. In allen Ausstrichpräparaten wurden zahlreiche Spirillen, meistens einzeln, gefunden.

Von diesem Blute wurden 0,7 ccm zum Tierversuch und 0,5 ccm zur Züchtung verwendet.

3) Am 10. Krankheitstage nach dem Fieberabfall (35,4°) wurden keine Recurrens-Spirillen mehr, sondern nur einzelne kurze, schlängelnde, vereinzelt hantelförmige Fäden gefunden. Ähnliche Erscheinung trat im Blute der geimpften Maus auf.

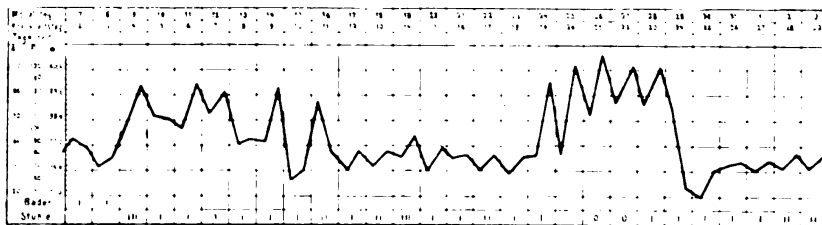
Urin in der Continua: braunrote Färbung, trüb, Reaktion sauer, spez. Gew. 1,021, Albumin positiv, Blut positiv, Diazoreaktion negativ, Sediment zahlreiche Leukocyten, Erythrocyten, granulierte Zylinder. Hämorrhagische Nephritis.

Der Patient wurde nach einigen Wochen gesund entlassen.

VI. (Fieberkurve VI), 44 Jahre alt. Schwere Bronchitis, Husten, blutiges Sputum.

1) Blutentnahme am 11. Juli nachm. (39,7°). Zahlreiche Recurrens-Spirillen vereinzelt Quartana-Plasmodien gefunden.

Urin: Reaktion sauer, fleischrot, spez. Gew. 1,019, Albumin positiv, Diazoreaktion negativ, Blut negativ. Im Sputum (d. i. im Blute des



Fieberkurve VI.

Sputums) befinden sich zahlreiche, sogar nach mehrstündigem Aufbewahren des Sputums bei Zimmertemperatur bewegliche Recurrens-Spirillen. Bisher hat man angenommen, daß diese Spirillen in den Sekreten und Exkreten nicht vorhanden sind. Aus dem obigen Befund im Sputum ist jedoch das Gegenteil erwiesen, und auch auf diesem Wege kann eben die Uebertragung der Erreger stattfinden, teils direkt durch Tröpfcheninfektion, ähnlich wie beim Fleckfieber, teils indirekt durch Fliegen und Ungeziefer, die mit dem Sputum in Berührung kommen.

2) Im Blute, welches am 16. Juli in der Apyrexie entnommen wurde, bei einem wahrscheinlich durch Endotoxine verursachten Fieberzustand wurden keine Spirochäten gefunden.

Urin: spez. Gew. 1,017, Albumin in Spuren vorhanden, Diazoreaktion und Blut negativ, Sediment ohne Bedeutung.

3) Nach 12 Tagen, am 19. Krankheitstage, ist ein heftiger Relaps, mit Bronchitis und schweren Störungen verbunden, eingetreten.

Urin: spez. Gew. 1,022. Albuminurie und Zylindrurie vorhanden, Diazoreaktion negativ.

Blut am 24. Juli nachm. (39,5°) entnommen: zahlreiche Spirochäten von beträchtlicher Länge gefunden; öftere Querteilung, bei einzelnen

Individuen sogar in 3 Teile nacheinander binnen wenigen Minuten bemerkbar. Dasselbe war am 26. Juli bei $40,6^{\circ}$ und am 28. Juli bei $39,0^{\circ}$ zu sehen. Bei der letzten Blutprobe waren, besonders im Tuschepräparat, Gruppen von Spirochäten zu finden, während sonst meist vereinzelte beobachtet wurden.

Der hängende Tropfen aus der Blutprobe des letzten Fiebertages wurde durch 8 Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkelfeld beobachtet. Teilungsprozesse waren andauernd zu sehen, neben normalen Korkzieherspirillen fanden sich — womöglich Degenerationsstadien — hantelförmige und äußerst zahlreiche fadenförmige, flach schlängelnde Gebilde, ähnlich wie ich unter V, 3 bemerkt habe. Andere bewegliche Fäden waren gruppenweise strahlenförmig mit einem Ende an Erythrocyten verankert (Fig. 2). Sie waren ungefähr $10-15\ \mu$ lang, schlängelnd, nicht schraubend, das eine Ende der Spirillen war unsichtbar, da es innerhalb des Lichtkreises der stechapfelförmigen Erythrocyten lag. Diese Erscheinung war bei vielen Blutproben auch anderer Patienten und ebenfalls in Mäuseblut zu bemerken.

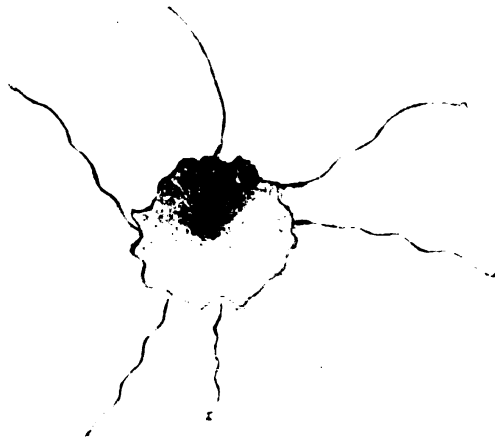


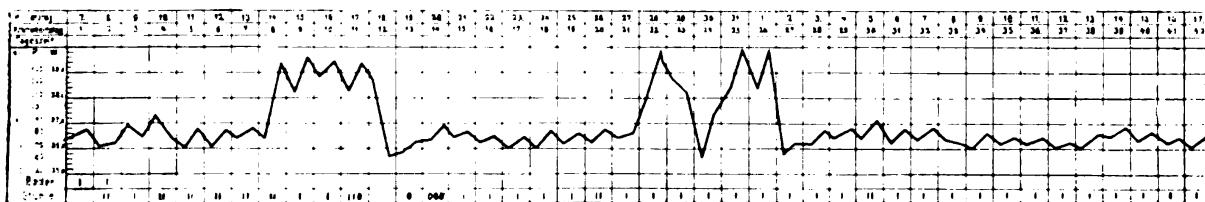
Fig. 2.

Nach 8 Stunden waren die Spirochäten im Tropfen größtenteils unbeweglich, vereinzelt konnte man noch eine schwache Eigenbewegung finden.

Der Patient wurde gesund.

VII. (Fieberkurve VII), 27 Jahre alt.

1) Erster Fieberanfall trat am 14. Juli ein, nachdem der Patient seit 7 Tagen in der Isolierbaracke weilte und während der Zeit vollkommen gesund blieb. Blutentnahme am 15. Juli vorm. ($38,2^{\circ}$). Hängetropfen (Dunkelfeld): stark vibrierende, typische Recurrens-Spirillen. Ausstrichpräparate (Pappenheim): einzelne ausgebildete Spirillen von



Fieberkurve VII.

8—10 Windungen in normaler Länge, außerdem kürzere von 3—4 Windungen gefunden. Am nächsten Tage wurde das Blut bei $39,2^{\circ}$ entnommen: zahlreiche Spirillen, augenscheinlich in verschiedenen Entwicklungsstadien, gefunden. Es sind lange Formen mit kurzen Windungen und kurze, schlängelnde mit flachen, wellenartigen Windungen sichtbar. Am nächsten Tage wurde die Probe bei $39,4^{\circ}$ entnommen, und der ausgebreitete Tropfen zum Vergleich in physiologischer Kochsalz-

lösung und Bouillon angesetzt, ohne daß ich einen Unterschied in dem Verhalten der Spirillen bemerkt habe. Es sind wieder die beiden Formen wie vorher vorhanden. In Tusche- und gefärbten Ausstrichen zahlreiche Spirochäten gefunden.

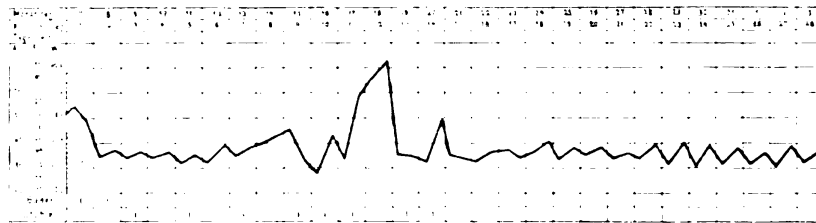
2) Am 18. Juli bei Fieberabfall sind keine Erreger im Blute.

3) Bei dem nächsten Anfall am 22. Krankheitstage (Temp. $39,9^{\circ}$) und den folgenden sind zahlreiche lebhaft bewegliche Spirochäten, in gefärbten Präparaten einzelne, auch in Knäueln verwickelt, sichtbar.

4) Am 27. Krankheitstage ($35,8^{\circ}$) keine Erreger gefunden. Der Patient wurde gesund.

VIII. (Fieberkurve VIII). 28 Jahre alt.

1) Der Patient wurde während des Anfalles in das Lazarett eingeliefert. Der erste Relaps hat am 17. Juli mit einem plötzlichen Fieberanstieg auf $40,3^{\circ}$ stattgefunden. Blutentnahme an demselben Tage nach-



Fieberkurve VIII.

mittags bei $38,8^{\circ}$. Im Dunkelfeld einzelne Spirochäten und hantelförmige Gebilde gefunden. Im Ausstrichpräparat vereinzelt Recurrens-Spirochäten sichtbar.

2) Am 19. Juli nach dem Fieberabfall wurden keine Erreger mehr gefunden.

Patient wurde gesund entlassen.

Wie ich bereits erwähnt habe, ist eine anaërobe Züchtung in hoher Schicht im normalen Pferdeserum-Nähragar (1:2) angesetzt worden. Das Resultat ist negativ geblieben: es konnte keine Kultur erzielt werden, nur die Leichen der Spirillen waren in der Blutschicht unterhalb der Agarschicht zu finden. Die Kulturen blieben 10 Tage lang bei 37° .

Tierversuch.

0,7 ccm Patientenblut (V) wurden einer gesunden Maus, deren Blut vorher kontrolliert wurde, subkutan eingespritzt. Nach 5 Stunden sind im Blutausschlag kurze Spirillen von 2—3 Windungen sichtbar, nach 24 Stunden ist die Maus munter, das Blut im Hängetrophen (Dunkelfeld) läßt verschiedene Gebilde beobachten, die möglicherweise die Entwicklungsstadien der Recurrens-Spirochäten sind:

1) Kleine, hantelförmige, bewegliche Stäbchen mit stark aufleuchtenden Enden (Dunkelfeld).

2) Ähnliche Formen, wie in Fig. 2 zu sehen sind. Sie sind ziemlich häufig.

3) Schließlich war eine normal große Recurrens-Spirochäte sichtbar.

4) Nach 48 Stunden habe ich im Blute der Maus deutliche Spirochäten gefunden, darunter einzelne mit weniger Windungen, als sie sonst bei normalen Spirillen zu sehen sind.

5) Nach 72 Stunden wurde der Maus wieder Blut entnommen und im hängenden Tropfen beobachtet: Spirochäten nicht gefunden, dagegen sind sehr zahlreiche die fadenförmig schlängelnden Gebilde an Erythrocyten, wie unter 2) sichtbar.

6) Die Maus ist 10 Tage nach der Einspritzung eingegangen. Die Sektion hat eine beträchtliche Milzschwellung ergeben. Im Herzblut habe ich lange, fadenförmige, schlängelnde Spirillen, oft in Strahlen an Erythrocyten verankert, wie oben beschrieben, beobachtet. Die meisten Fäden sind jedoch sehr fein, manchmal kaum sichtbar.

Nach dem Fieberabfall desselben Patienten wurde sein spirillen-freies Blut (1 ccm) einer anderen gesunden Maus subkutan eingespritzt. Nach 24 Stunden habe ich im Mausblut keine Spirillen, sondern nur vereinzelt die schlängelnden Fäden gefunden. Die Sektion der Maus ergab wieder eine starke Vergrößerung der Milz und im Herzblut dieselben Fäden, wie auch vereinzelt ausgebildete Recurrens-Spirillen.

Was die gleichzeitige Untersuchung an der Kleiderlaus (*Pediculus vestimenti*) anbelangt, ist zunächst von Interesse, zu erkennen, ob sie bei der Recurrens-Uebertragung eine ähnliche Rolle wie *Anopheles* bei der Sporogonie der Malariaprotocysten spielt; oder möglicherweise übertragen die Läuse rein mechanisch das pathogene Blut beim Saugen.

Ueber diesen Teil kann vorläufig folgendes mitgeteilt werden: Einige Läuse haben an Patienten während der Continua bei verschiedenen Anfällen $\frac{1}{2}$ Stunde lang gesaugt. Zugleich wurde das Vorhandensein von Recurrens-Spirochäten im Blute des Patienten festgestellt. Da eine andere Untersuchungsmöglichkeit nicht gegeben war, konnten nur Quetschpräparate aus den Läusen gemacht und im hängenden Tropfen, bzw. in gefärbten Ausstrichen untersucht werden.

1) Eine Stunde nach dem Saugen wurden die Läuse äußerlich abgespült, einzeln mit physiologischer Kochsalzlösung fein verrieben und im ausgebreiteten Tropfen bei Dunkelfeldbeleuchtung beobachtet. Typische Spirochäten habe ich nicht gefunden. Eine spirillenähnliche Form, die ich beobachtet habe, war mit einem Ende an einer Zelle verankert; an dem anderen Ende war die Bewegung schlängelnd (nicht schraubend), schwach aufleuchtend. Diese Form entspricht dem sonstigen, oben oft erwähnten fadenförmigen Stadium. Innerhalb des Fadens sind leuchtende Punkte sichtbar (Fig. 3).



Fig. 3.

Der Faden schrumpft während der Beobachtung im Dunkelfeld immer mehr zusammen, und binnen weniger Minuten besteht er aus einigen dicht hintereinander liegenden Kreisen, jetzt einer mehrfachen Schlinge ähnlich (Fig. 4).

Derartige Schlingen waren auch mehrfach in diesen Präparaten zu beobachten. Bei einzelnen ist eine Trennung der Kreise sichtbar, die sich dann voneinander entfernen. In einem anderen Falle war das Schrumpfen der fadenförmigen Gestalt sehr deutlich zu sehen.

Kontrolltiere, die das Blut nicht gesaugt haben, zeigten in ihren Präparaten keine derartigen Erscheinungen.

2) Eine andere Reihe von Läusen, die gleichzeitig dasselbe Blut gesaugt haben, wurde erst nach 2 Stunden, wie unter 1), präpariert. Ein Teil der Präparate wurde im ausgebreiteten Tropfen vergleichsweise mit gesundem menschlichen Blut verdünnt. Es fanden sich auch hier vereinzelt, schwach schlängelnde, feine Spirillen, ähnlich wie in Fig. 2.



Fig. 4a.



Fig. 4b.

In einem von diesen Lauspräparaten finden sich große Spirochäten von ganz anderem Typus als *Recurrens*, mit undulierender Membran und sehr langen Geißeln an beiden Enden versehen.

Recurrens-freie Kontrolltiere ergaben auch hier negative Resultate.

3) Präparate, die 5 Stunden nach dem Saugen der Läuse aus denselben gemacht wurden, enthielten weder Spirillen noch überhaupt bewegliche Fäden.

Schnittpräparate aus den infizierten Läusen konnten leider nicht erzielt werden.

Uebertragungsversuche mit den infizierten Läusen auf Mäuse und Meerschweinchen ergaben keine greifbaren Resultate.

Bei der Bearbeitung des vorliegenden Materiales erschien mir von Wichtigkeit, die Anamnese zu berücksichtigen, besonders um die Ursache der vereinzelt auftretenden Malaria festzustellen. Laut eigenen Angaben der Patienten wohnten sie meistens in trockenen, wasserarmen Gegenden und litten früher nie an Fiebererkrankungen. Nur ein Patient (III), der aus dem Gouvernement Twersk stammte und in einer Sumpfgegend wohnte, war früher oft an Fieber krank. Mit Läusen haben viele in ihrer Vergangenheit nähere Bekanntschaft gemacht; nach der Beschreibung der meisten Patienten waren die heimatlichen Läuse derselben Art, wie die zuletzt im Felde gehabt. Da ich mich mit den Patienten in ihrer Muttersprache verständigen konnte, war es mir oft möglich, einen tieferen Einblick in das unbeschreibliche sanitäre und kulturelle Elend des russischen Muschik, besonders in den echt russischen Gouvernements, zu gewinnen.

Für die eifrige Unterstützung bei der Ausführung der obigen Versuche danke ich Herrn stud. med. R. Bauch auch an dieser Stelle
(G. C.)

Nachdruck verboten.

Ueber das agglutinatorische Verhalten der Sera von gesunden (bzw. nicht an Typhus oder Paratyphus leidenden) Chinesen gegenüber Typhus- und Paratyphusbacillen.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Deutschen Medizinschule für Chinesen in Schanghai. Leiter: Privatdoz. Dr. Dold.]

Von cand. med. **Chang Chia-pin**, Schanghai.

Das agglutinatorische Verhalten normaler Sera gegen Typhusbacillen ist bald nach der Entdeckung der Agglutinationsreaktion durch Gruber und Durham und nach der diagnostischen Verwertung dieser Reaktion durch Grünbaum (1) und Widal (2) von einer großen Zahl von Autoren (3—13) geprüft worden.

Während Widal noch die agglutinierende Wirkung eines auf 1:10 verdünnten Krankenserums für beweisend hielt, war schon früher von Gruber gezeigt worden, daß auch normales menschliches Serum in stärkerer Konzentration Typhusbacillen agglutinieren kann. In der Folgezeit hat sich eine große Zahl von Autoren (3—13) mit der Frage beschäftigt, bis zu welcher Verdünnung die Sera gesunder Personen, bzw. nicht an Typhus leidender Kranken auf Typhusbacillen eine agglutinatorische Wirkung zeigen. Das Ergebnis aller dieser Untersuchungen läßt sich dahin zusammenfassen, daß — von einigen seltenen Ausnahmen abgesehen — das Serum Gesunder oder nicht an Typhus leidender Kranken in der Regel einen Agglutinationstiter von 1:50 nicht übersteigt. Ausnahmen von dieser Regel sind von verschiedenen Seiten beobachtet worden, so von Becker u. Ruhland (14), welche bei einem an einer epidemischen Genickstarre leidenden Kranken eine Agglutination der Typhusbacillen noch in einer Verdünnung von 1:100 beobachteten, von Wilson (15), welcher unter 21 Fällen von Genickstarre 7mal eine positive Agglutinationsreaktion für Typhusbacillen (bis 1:400) und unter 31 Fällen von Flecktyphus 18mal eine positive Reaktion (1:50—1:200) sah. Bei Tuberkulösen wurde von Krencker (16), Roth (17) u. a. eine positive Agglutinationsreaktion gegen Typhusbacillen noch in einer Verdünnung von 1:200 festgestellt. Der hohe Agglutinationstiter des Serums Ikterischer sei hier nur nebenbei erwähnt, da vieles dafür spricht, daß es sich hier oft um versteckte Typhus- oder Paratyphusinfektionen handelt.

Als untere Grenze des noch als spezifisch anzusprechenden Agglutinationstiters schlagen vor:

Grünbaum (18)	1:32	Fränkel (21)	1:50
Stern (19)	1:30	Köhler (22)	1:50
Kolle (20)	1:30	Bruns u. Kayser (23)	1:75

In einer kürzlich erschienenen Arbeit hat Donges (25) gefunden, daß der Agglutinationstiter normaler menschlicher Sera gegen Typhusbacillen zwischen 20 und 40 schwankte. In der Dienstanweisung (24) für die der Typhusbekämpfung dienenden bakteriologischen Anstalten in Deutschland wird als untere Grenze eine Serumverdünnung von 1:100 verlangt.

28*

Alle diese Untersuchungen über das agglutinatorische Verhalten normaler bzw. nicht an Typhus leidender Menschen wurden meines Wissens bisher nur bei Angehörigen der weißen Rasse ausgeführt. Die Möglichkeit läßt sich nicht von vornherein von der Hand weisen, daß die Angehörigen der gelben Rasse sich in dieser Beziehung anders verhalten, zumal da wir hier mit ganz anderen Lebens- und speziell Ernährungsverhältnissen zu rechnen haben.

Bei der in den Dörfern und Städten Chinas herrschenden Uebervölkerung, dem Mangel an hygienischen Kenntnissen unter dem Volk und dem Fehlen hygienischer Einrichtungen (wie Trinkwasser- und Abwasserversorgung, zweckmäßige Abfallbeseitigung etc.), muß man mit einem sehr häufigen Auftreten von Typhus- und Paratyphuserkrankungen rechnen. Man könnte erwarten, daß angesichts dieser großen Häufigkeit von Typhus- und Paratyphusinfektionen eine mehr oder weniger vollständige Durchimmunisierung der Bevölkerung eingetreten ist, was in einem allgemein höheren Agglutinationstiter der „Normalsera“ zum Ausdruck kommen würde.

Aus diesen Gründen glaubten wir, daß eine Untersuchung der Sera von Chinesen (Gesunder oder nicht an Typhus und Paratyphus leidenden Kranker) von Interesse sein dürfte.

Für diese Untersuchung stand mir in der Hauptsache das Krankmaterial des „Paulum-Hospitals für Chinesen“ zu Gebot; außerdem stellte sich eine Anzahl von Studenten der Deutschen Medizinschule freundlicherweise zur Verfügung.

Untersucht wurden nur Personen, welche weder an Typhus noch an Paratyphus (noch Ikterus) litten und auch in ihrer Vorgeschichte keine derartige Krankheit aufzuweisen hatten. In jedem einzelnen Falle wurde eine möglichst genaue Anamnese aufgenommen. Da die Mehrzahl der Kranken der niederen Bevölkerungsklasse angehörte, war es natürlich nicht immer möglich, mit Sicherheit frühere Typhus- und Paratyphuserkrankungen anamnestisch auszuschließen.

Technik: Bei allen Fällen wurde, wie das für die vergleichende Untersuchung notwendig ist, immer dieselbe Technik angewendet. Von dem Ohrläppchen oder der Armvene wurde das Blut entnommen. Nach dem Auspressen des Serums wurden mit physiologischer Kochsalzlösung die Verdünnungen von 1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50, 1:60 gemacht. Von diesen Verdünnungen wurden je 0,5 ccm in Reagenzröhrchen gebracht. Jedes Röhrchen bekam dann einen Zusatz von 2 Tropfen einer dicken, gleichmäßigen Aufschwemmung von Typhus- bzw. Paratyphusbacillen (24-stündige Kultur); ebenso die 0,5 ccm enthaltenden Kontrollröhrchen. Nach Durchmischen wurden die Röhrchen im Brutschrank bei 37° C 2 Stunden lang gehalten und dann makroskopisch betrachtet.

Das Ergebnis der Untersuchungen über das agglutinatorische Verhalten der genannten Sera gegenüber Typhusbacillen ist in Tabelle I zusammengestellt.

Wie man aus der Tabelle I ersieht, zeigte keiner der untersuchten 50 Fälle einen Agglutinationstiter von 1:50 oder gar 1:60. 36 Fälle (= 72 Proz.) zeigten einen deutlichen¹⁾ Titer von 1:10; 14 Fälle (= 28 Proz.) zeigten einen solchen von 1:20; 3 Fälle (= 6 Proz.) von 1:30; 1 Fall (= 2 Proz.) von 1:40. In 10 Fällen (= 20 Proz.) war

1) Es sind nur die deutlichen Reaktionen berücksichtigt.

Tabelle I.
Typhusbacillen.

No.	Name	Alter Jahre	Geschlecht	Agglutination bei Serumverdünnung						Bemerkungen	
				1:10	1:20	1:30	1:40	1:50	1:60	Frühere Krankheiten	Jetziger Zustand
1	Mei	40	♂	+	—	—	—	—	—	—	Gelenkerguß
2	Wang	24	♂	+	—	—	—	—	—	—	Leibschuß
3	Chu	23	♂	+	+	±	—	—	—	fieberhafte Krankh. gehabt	Bubo, Phimose
4	Wang	28	♂	+	—	—	—	—	—	hatte öfters fieberhafte Krankheiten	Condylomata lata
5	Schen	20	♀	+	—	—	—	—	—	vor 7 Monaten 7-tägiges Fieber	„ „
6	Hian	26	♂	±	—	—	—	—	—	—	Bubo
7	—	43	♂	+	—	—	—	—	—	—	Occlusio bulbi
8	Kiang	18	♂	+	+	—	—	—	—	fieberhafte Krankh. gehabt	Panaritium ossale
9	Chu	17	♂	+	+	—	—	—	—	—	Gonorrhöe
10	Lu	50	♂	+	+	+	+	—	—	vor 4 Jahren 4-tägiges Fieber gehabt	Ekzem
11	Chung	25	♂	+	±	—	—	—	—	fieberhafte Krankh. gehabt	gesund
12	Li	26	♂	+	—	—	—	—	—	vor 5 Jahren Pleuritis	„
13	Wong	44	♂	—	—	—	—	—	—	—	Fingerquetschung
14	Hsiau	26	♂	+	+	—	—	—	—	vor 5 Jahren 2 Monate lang Fieber gehabt	Fistula ani
15	Zun	—	♂	—	—	—	—	—	—	vor 15 Jahren langdauerndes Fieber gehabt	gesund
16	—	—	♂	+	—	—	—	—	—	—	Meningitis
17	Chang	22	♂	±	—	—	—	—	—	—	Lymphom
18	Li	23	♂	+	—	—	—	—	—	Malaria	„
19	Chang	22	♂	±	—	—	—	—	—	—	Syphilis
20	Huang	—	♂	+	—	—	—	—	—	—	gesund
21	Li	28	♂	+	+	—	—	—	—	fieberhafte Krankh. gehabt	Phimose
22	Li	—	♂	+	—	—	—	—	—	—	gesund
23	Chung	—	♂	+	—	—	—	—	—	—	„
24	Huang	—	♂	+	—	—	—	—	—	—	Lepra
25	Gu	37	♂	+	—	—	—	—	—	—	Darmbeintuberkulose
26	Fan	23	♂	±	—	—	—	—	—	—	Keratitis
27	Tung	32	♂	+	—	—	—	—	—	Typhus vor 4 Jahren	gesund
28	Sung	23	♂	+	—	—	—	—	—	fieberhafte Krankh. gehabt	„
29	—	32	♂	+	+	—	—	—	—	—	Syphilis
30	Jang	30	♂	±	—	—	—	—	—	Malaria	gesund
31	—	—	♂	+	+	—	—	—	—	—	„
32	Tsian	23	♂	+	—	—	—	—	—	fieberhafte Krankh. gehabt	„
33	Li	22	♂	±	—	—	—	—	—	—	Fistula ani
34	—	9	♂	+	+	±	—	—	—	—	Scharlach
35	Li	22	♂	+	+	±	—	—	—	—	Gelenktuberkulose
36	Wu	32	♂	+	—	—	—	—	—	—	Ankylostomiasis
37	Fu	43	♂	+	—	—	—	—	—	—	? Fieber
38	Lou	12	♂	+	—	—	—	—	—	—	Bubo inguinalis
39	Hü	17	♂	—	—	—	—	—	—	—	Condylomata lata
40	Wang	31	♂	—	—	—	—	—	—	fieberhafte Krankh. gehabt	Syphilis
41	Koo	31	♂	±	—	—	—	—	—	—	Blasenstein
42	Chu	27	♂	+	—	—	—	—	—	—	? Fieber seit 2 Monaten
43	Gau	38	♂	+	+	+	±	—	—	—	Osteomyelitis mandib.
44	—	—	♂	+	—	—	—	—	—	—	Bubo axillaris
45	—	—	♂	±	—	—	—	—	—	—	Phimose
46	Wang	33	♂	±	—	—	—	—	—	—	Malaria
47	Chu	22	♂	+	+	—	—	—	—	fieberhafte Krankh. gehabt	Schnupfen
48	Chen	18	♂	+	+	+	—	—	—	—	Radiusfraktur
49	Chu	17	♂	+	+	—	—	—	—	—	Fraktur
50	Li	21	♂	+	—	—	—	—	—	—	Coxitis

Tabelle II.
Paratyphus B.

No.	Name	Alter Jahre	Geschlecht	Agglutination bei Serumverdünnung						Bemerkungen	
				1:10	1:20	1:30	1:40	1:50	1:60	Frühere Krankheiten	Jetziger Zustand
1	Hiau	26	♂	+	+	+	—	—	—	vor 5 Jahren 2 Monate Fieber	Fistula ani
2	Wang	44	♂	+	+	—	—	—	—	—	Fingerquetschung
3	Lu	50	♂	—	—	—	—	—	—	—	Ekzem
4	Chang	22	♂	±	—	—	—	—	—	—	Lymphom
5	Li	23	♂	±	—	—	—	—	—	Malaria	—
6	Li	28	♂	±	—	—	—	—	—	—	Phimose
7	Chung	—	♂	±	—	—	—	—	—	—	gesund
8	Huang	—	♂	±	—	—	—	—	—	—	Lepra
9	—	10	♂	+	+	—	—	—	—	—	Bubo
10	—	32	♂	+	—	—	—	—	—	—	Phlegmone
11	Gu	32	♂	±	—	—	—	—	—	vor einem Jahre Fieberanfälle	Osteomyelitis mandibularis
12	Wang	27	♂	+	—	—	—	—	—	—	gesund
13	Ting	20	♂	+	+	—	—	—	—	—	spitze Kondylome
14	Cheng	24	♂	+	+	—	—	—	—	—	gesund
15	Ling	36	♂	±	—	—	—	—	—	vor 2 Jahren Fieber gehabt	Unterschenkelfistel
16	Li	54	♂	±	—	—	—	—	—	—	Halstumor
17	Dei	61	♂	+	—	—	—	—	—	—	—
18	Wang	30	♂	+	—	—	—	—	—	—	—
19	Hu	36	♂	+	—	—	—	—	—	—	—
20	Shen	24	♂	+	—	—	—	—	—	—	—
21	Liu	21	♂	+	—	—	—	—	—	—	Ekzema cruris
22	Pan	23	♂	+	±	—	—	—	—	—	Halslymphom
23	Li	18	♂	+	+	+	+	—	—	—	Phimose
24	Hü	11	♂	+	—	—	—	—	—	—	? Fieber
25	Li	54	♂	+	—	—	—	—	—	—	Halslymphom
26	Hu	30	♂	+	—	—	—	—	—	—	—
27	Chang	25	♂	±	—	—	—	—	—	—	periproktitischer Abszeß
28	Chien	41	♂	+	—	—	—	—	—	—	Oberschenkelgeschwür
29	Wu	34	♂	—	—	—	—	—	—	—	Bubo inguinalis
30	Kan	21	♂	+	—	—	—	—	—	—	Conjunctivitis
31	Chi	36	♂	+	—	—	—	—	—	—	Bubo inguinalis
32	Kiang	26	♂	—	—	—	—	—	—	—	Ulcus durum
33	Shao	35	♂	+	—	—	—	—	—	—	—
34	Chen	31	♂	+	—	—	—	—	—	Fieber gehabt vor einem Jahre fieberhafte Krankheit	Syphilis " Fistel in der Schultergegend
35	Wang	33	♂	+	—	—	—	—	—	—	Fractura antibrachii
36	Jau	13	♂	+	—	—	—	—	—	—	Hüftgelenktuberkulose
37	Chu	29	♂	+	—	—	—	—	—	—	periproktitischer Abszeß
38	Tang	16	♂	+	±	—	—	—	—	—	? Fieber
39	Jau	35	♂	+	—	—	—	—	—	—	Fistula ani
40	Lam	46	♂	+	+	—	—	—	—	—	Syphilis + Gonorrhoe
41	Shen	27	♂	+	+	+	±	—	—	—	Phimose
42	Pan	37	♂	+	—	—	—	—	—	—	Ascites
43	Ting	20	♂	+	+	+	—	—	—	—	Fistula ani
44	Chien	28	♂	+	+	+	+	—	—	—	Lebercirrhose
45	Tang	44	♂	+	+	+	+	—	—	—	Hydrocele
46	Chang	24	♂	—	—	—	—	—	—	—	Bubo
47	Li	28	♂	+	—	—	—	—	—	—	Ascites
48	Hü	27	♂	+	—	—	—	—	—	—	Phimose
49	Wang	24	♂	—	—	—	—	—	—	—	Syphilis
50	Gi	33	♂	+	—	—	—	—	—	—	Ascites

selbst bei einer Verdünnung von 1:10 die Agglutination undeutlich. In 4 Fällen (= 8 Proz.) war der Agglutinationstiter unter 1:10.

Weder Alter noch Geschlecht scheint einen Einfluß auf die Titerhöhe der normalen Sera zu besitzen.

Die Zahl der Untersuchungen über das agglutinatorische Verhalten normaler Sera gegen Paratyphusbacillen ist nicht so groß wie die Zahl der entsprechenden Arbeiten über Typhus. Es hat sich gezeigt, daß die Verhältnisse gegenüber Paratyphusbacillen ganz analog sind wie gegenüber Typhusbacillen.

Da auch diese Untersuchungen nur bei Angehörigen der weißen Rasse ausgeführt worden sind, erschien es interessant, analoge Untersuchungen auch bei den Angehörigen der gelben Rasse auszuführen.

Die Technik war dieselbe wie oben.

In Tabelle II ist das Ergebnis dieser Untersuchungen zusammengestellt.

Wie Tabelle II zeigt, war in keinem der untersuchten 50 Fälle der Agglutinationstiter gegen Paratyphusbacillen höher als 1:40. 36 Fälle (= 72 Proz.) zeigten einen deutlichen Titer von 1:10; 10 Fälle (= 20 Proz.) von 1:20; 6 Fälle (= 12 Proz.) von 1:30; 3 Fälle (= 6 Proz.) von 1:40. In 9 Fällen (= 18 Proz.) war selbst bei einer Verdünnung von 1:10 die Agglutination undeutlich. In 5 Fällen (= 10 Proz.) war der Agglutinationstiter unter 1:10.

Ein Einfluß von Alter und Geschlecht auf das agglutinatorische Verhalten der Sera gegen Paratyphusbacillen ließ sich ebenfalls nicht feststellen.

Zusammenfassung.

Die vorliegenden Untersuchungen über das agglutinatorische Verhalten der Sera von gesunden (bzw. nicht an Typhus oder Paratyphus leidenden) Chinesen gegenüber Typhus- oder Paratyphusbacillen haben ergeben, daß solche „Normalsera“ höchstens bis zu einer Verdünnung von 1:40 Typhus- und Paratyphusbacillen agglutinierten (makroskopische Beobachtung). Die Mehrzahl der Fälle zeigte den niederen Agglutinationstiter von 1:10. Daraus geht hervor, daß auch für die Angehörigen der gelben Rasse, speziell für Chinesen, die bei der weißen Rasse als normal ermittelten Agglutinationswerte gegenüber Typhus- und Paratyphusbacillen Gültigkeit besitzen.

Literatur.

- 1) Grünbaum, Blood and the identification of bacterial species. (Science Progr. Vol. 1. 1897. No. 5; zit. nach Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikrobiol. Bd. 3. 1913.)
- 2) Widal, Sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. (Bull. de la soc. méd. des hôpit. T. 6. 1896. 26.)
- 3) Kasel und Mann, Beiträge zur Lehre der Gruber-Widalschen Serumdiagnose des Unterleibstypus. (München. med. Wochenschr. 1899. No. 18.)
- 4) Köhler, Das Agglutinationsphänomen. (Klin. Jahrb. Bd. 8. 1901. H. 1.)
- 5) Dombrowski, Ueber die Widalsche Reaktion und deren praktische Bedeutung. (Hyg. Rundsch. Bd. 13. 1903. No. 5.)
- 6) Förster, Quantitative Untersuchungen über die agglutinatorische Wirkung des Blutsersums usw. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 24. 1897. H. 3.)
- 7) Du Mesnil de Rochemont, Ueber die Gruber-Widalsche Serumdiagnostik bei Typhus abdominalis. (München. med. Wochenschr. 1897. No. 5.)

- 8) Levy, Ein Beitrag zur Immunisierung mit Typhusbacillen und Typhusimmunität. (Wien. klin. Wochenschr. 1897. No. 33.)
- 9) Meunier, Sem. méd. 1897.
- 10) Haedke, Die Diagnose des Abdominaltyphus und Widals serumdiagnostisches Verfahren. (Deutsch. med. Wochenschr. 1897. No. 2.)
- 11) Sklower, Beiträge zur Serumdiagnostik des Typhus abdominalis. [Inaug.-Diss.] Leipzig 1897.
- 12) Kollé, Zur Serumdiagnostik des Typhus abdominalis. (Deutsche med. Wochenschr. 1897. No. 9.)
- 13) Kühnau, Ueber die Serodiagnostik des Typhus abdominalis. (Berlin. klin. Wochenschr. 1897. No. 19.)
- 14) Becker u. Ruhland, Typhoid agglutinin reaction in a case of epidemic cerebro-spinal meningitis. (Journ. Amer. med. Assoc. Vol. 52. 1909. No. 1.)
- 15) Wilson, W. J., On heterologous agglutinins etc. (Brit. med. Assoc. Belfast. 27.-30. Juli 1909.)
- 16) Krencker, E., Typhusagglutination bei Tuberkulose. (München. med. Wochenschr. Bd. 56. 1909. p. 1017.)
- 17) Roth, O., Zur Frage der Agglutination von Typhusbacillen durch das Serum Tuberkulöser. (Centralbl. f. inn. Med. 1910. No. 1.)
- 18) Grünbaum, Preliminary note on the use of the agglutinative action of human serum etc. (Lancet. 1896. Vol. 2. No. 12.)
- 19) Stern, Diagnostische Blutuntersuchungen beim Abdominaltyphus. (Centralbl. f. inn. Med. 1896. No. 49.)
- 20) Kollé, Zur Serumdiagnostik des Typhus abdominalis. (Deutsch. med. Wochenschr. 1897. No. 9.)
- 21) Fränkel, C., Ueber den Wert der Widalschen Probe zur Erkennung des Typhus abdominalis. (Deutsch. med. Wochenschr. 1897. No. 2.)
- 22) Köhler, Das Agglutinationsphänomen. (Klin. Jahrb. Bd. 8. 1901. H. 1.)
- 23) Bruns u. Kayser, Ueber die Verwertbarkeit des Agglutinationsphänomens etc. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 43. 1903.)
- 24) Anleitung für die bakteriologische Feststellung des Typhus. (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 41. 1912. 19.)
- 25) Donges, Ueber die agglutinatorische Kraft des Serums nach überstandener Typhusinfektion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1914. H. 2.)

Nachdruck verboten.

Differenzierung von Bakterienkulturen mit H₂O₂.

[Aus dem Hygienischen Institut der Jagiellonischen Universität Krakau:
Direktor: Prof. Odo Bujwid.]

Von Prof. Odo Bujwid, Krakau.

Daß verschiedene Bakterien nicht in gleichem Maße die Zerspaltung des Wasserstoffsuperoxyds bewirken, wurde schon vor Jahren bemerkt und dabei auf ungleiche Katalasebildung hingewiesen¹⁾. Gelegentlich vergleichender Versuche über verschiedene Bakterienarten konnte ich feststellen, daß diese Eigenschaft bei Differenzierung mancher Bakterienkulturen gute Dienste leistet. Auf Grund der Katalyse des H₂O₂ konnte ich die Bakterien in 4 Gruppen trennen.

Die 1. Gruppe bilden diejenigen Bakterien, welche sehr rasch H₂O₂ spalten; es sind dies Sarcinen, Staphylokokken. *B. diphtheriae*, *B. pestis* und verschiedene Mikrokokken, welche auf den Plattenkulturen als zufällige Beimengung aus der Luft wachsen.

Die 2. Gruppe bilden Bakterien, welche diese Eigenschaft in nicht so hohem Grade besitzen: *B. anthracis*, *B. subtilis*, *Paratyphus B* und *B. coli*.

Zur 3. Gruppe gehören Bakterien, welche weniger ausgesprochene Katalasebildung haben, wie *Paratyphus* A, *B. typhi* und einige Wasserbakterien.

Die 4. Gruppe bildet nur sehr wenig Katalase, so alle Vibrionen, wie *V. cholerae asiaticae*, *V. Miecznikowii*, choleraähnliche etc., Streptokokken und der *Diplococcus lactis acidii*.

Wollen wir von einer vorhandenen Platte rasch die beigemengten Luftkolonien oder (beim Stuhlausstrich) den *B. coli* von den Vibrionen unterscheiden, so geschieht dies sehr leicht, wenn wir eine winzig kleine Menge der fraglichen Kultur in ein Tröpfchen auf dem Objektglas von 1-proz. Lösung des H_2O_2 einbringen. Der Versuch wird auf folgende Weise ausgeführt:

Mittels einer Pipette bringen wir auf ein sorgfältig gereinigtes Objektglas 2 Reihen (10—12) Tröpfchen von 1-proz. Wasserstoffsuperoxyd, genau so, wie das bei der Agglutination gemacht wird. Mit einem leicht gekrümmten Platindraht, welcher jedesmal frisch ausgeglüht und, was sehr wichtig ist, in sterilisiertem Wasser abgekühlt wird (ausgeglühter Platindraht bewirkt die Zersetzung des H_2O_2 von selbst!), nehmen wir ein sehr kleines Quantum des Bakterienrasens vom Agar-Agar und zerreiben es tüchtig und rasch in einem H_2O_2 -Tropfen unter Vermeidung von Flockenbildung. Bei den Bakterien der 1. Gruppe entstehen momentan mehrere große Schaumbläschen, bei denen der 2. ist die Zahl derselben geringer, bei der 3. bilden sich spärlich kleinere Bläschen, bei der 4. kommt fast kein Bläschen vor. Operieren mit möglichst gleichen Tropfen des 1-proz. H_2O_2 und ebenso gleichen minimalen Quanten der Bakterienrasen wird vorausgesetzt.

Nach einiger Uebung kann man leicht verschiedene Bakterienkulturen ziemlich genau differenzieren. Ich konnte z. B. leicht auf diese Weise *Paratyphus* A von *Paratyphus* B unterscheiden, desgleichen *B. typhi* von *B. coli* und ebenso *B. coli* von verschiedenen Vibrionen.

Ich glaube, daß diese Methode für die Differenzierung der zu untersuchenden Kolonien in Epidemielaboratorien wohl zu verwenden ist, z. B. von *B. typhi*, *B. coli*, *Vibrio cholerae asiaticae*, beider *Paratyphus* etc.

Es sei jedoch nochmals hervorgehoben, daß man unbedingt nur mit kleinen Spuren der Kulturen operieren muß; ein etwas größeres Quantum des Bakterienrasens veranlaßt immer eine Zersetzung, die sich nicht differenzieren läßt. Nur kleine Mengen, welche eine Trübung des H_2O_2 -Tropfens bewirken, sind zulässig.

Krakau, im Januar 1916.

1) Rywosch, D. und Rywosch, Marie, Ueber die Katalyse des H_2O_2 durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. p. 295—298.)

Nachdruck verboten.

Verbesserter Säurefuchsinagar zur Typhus- und Ruhrdiagnose.

[Aus dem Laboratorium des beratenden Hygienikers einer Etappen-Inspektion.]

Von Dr. E. Kindborg, Stabsarzt d. L.,

zurzeit Leiter einer bakteriologischen Untersuchungsstelle (Suwalki).

Mit 2 Figuren im Text.

In Abt. I. Orig. Bd. 46 des Centralblattes für Bakteriologie (p. 554) habe ich gemeinschaftlich mit A. Kindborg den Säurefuchsinagar für die Typhus- und Ruhrdiagnose empfohlen. Die Brauchbarkeit dieses Nährbodens beruht auf dem Umstande, daß das Säurefuchsin durch gewisse Bakterien entfärbt wird. Hierzu gehören der Typhus- und Paratyphusbacillus, der Choleravibrio und die Ruhrarten. Da jedoch das *Bacterium coli* ebenfalls dazugehört, so mußte auch diesem Agar, gleichwie den meisten der gebräuchlichen Umschlag-nährböden, etwas Milchzucker zugesetzt werden. Außerdem erhielt er, um die Entwicklung der Fäulniskeime einzuschränken, einen geringen Zusatz von Malachitgrün. Während nämlich in normalen Stühlen das *Bacterium coli* durchaus vorherrscht, ist es in krankhaften Stühlen nicht dieses, das die Erkennung und Isolierung der pathogenen Arten erschwert, sondern es tritt dann eine vollständig veränderte Darmflora auf, an der Kokken, *Proteus*-Arten und sonstige saprophytische Keime beteiligt sind. Es ist also mit der Differenzierung von *Bacterium coli* auf der einen und den Bacillen der Typhus-Ruhrgruppe auf der anderen Seite durchaus noch nicht allen Erfordernissen der Praxis Genüge getan. Und hierin leistet der Säurefuchsinagar insofern Besonderes, als auf ihm der Kreis der verdächtige Kolonien bildenden Keime mehr, als auf den übrigen Nährböden, eingeschränkt ist. Während beim Drigalski-Agar die Farbenunterschiede bekanntlich oftmals verschwimmen und namentlich bei künstlicher Beleuchtung schwer oder gar nicht erkennbar sind, tritt beim Endo-Agar das *Bacterium coli* in deutlicherer Weise aktiv auf; dieser Nährboden ist also, genau genommen, ein solcher zur leichteren Erkennung der *Coli*-Arten. Alle anderen Keime dagegen, die pathogenen, wie die nicht-pathogenen, verhalten sich in gleichem Grade farblos und indifferent. Anders beim Säurefuchsinagar. Auf diesem sind die gesuchten pathogenen Keime die aktiv auftretenden, wogegen die indifferenten den roten Grundton nicht oder nicht wesentlich verändern und dadurch außer Konkurrenz bleiben. Die Konkurrenz des *Bacterium coli* wird durch dessen gleichzeitige Eigenschaft der Milchzuckerzerlegung ausgeschaltet.

Es ergibt sich nun aus dem Gesagten von selbst die Frage nach den chemischen Vorgängen, die den betreffenden Farbenveränderungen zugrunde liegen. Wir haben diese Frage bereits in der vorerwähnten Arbeit dahin beantworten zu können geglaubt, daß die Entfärbung auf der Nitritbildung beruht. Denn es gelang, mit Nitritlösungen eine analoge Entfärbung hervorzurufen. Darin liegt meines Erachtens auch die Erklärung, weshalb der Choleravibrio auf Säure-

fuchsinagar stark entfärbend wächst, obwohl auch er, worauf neuerdings Aronson¹⁾ aufmerksam gemacht hat, Milchzucker zu spalten imstande ist. Er ist bekanntlich ein hervorragender Nitritbildner, und diese Eigenschaft läßt die gleichzeitige geringe Milchzuckerspaltung in den Hintergrund treten. Beim *Bacterium coli* ist — mit vielleicht verschwindenden Ausnahmen — die Kraft der Milchzuckerspaltung ungleich stärker. Daß es sich bei der damit einhergehenden, bleibenden Röte des Säurefuchsin nicht einfach um ein Wechselspiel von Säure und Alkali, sondern um die Bildung eines neuen Farbstoffes handelt, haben wir an der erwähnten früheren Stelle bereits ausgeführt, und ich freue mich, jetzt in der eben zitierten Arbeit von Aronson für diese Ansicht eine Stütze gefunden zu haben. Der Autor weist nämlich für den Endo-Agar nach, daß sich bei der Milchzuckerspaltung Aldehyd bildet, auf den die in besagtem Agar aus dem zugesetzten Natriumsulfit sich bildende farblose fuchsin-schweflige Säure als Reagens mit Rotfärbung in die Erscheinung tritt. Und um einen analogen Vorgang dürfte es sich beim Bestehenbleiben der roten Farbe in und neben den Coli-Kolonieen auf Säurefuchsinagar handeln.

Während aber auf Endo-Agar die von Aronson (l. c.) mit Recht hervorgehobene Befähigung des *Choleravibrio*, Milchzucker zu spalten, sich in deutlicher, wenn auch zarter Rotfärbung der Kolonieen äußert, wirkt derselbe Keim auf Säurefuchsinagar, trotz des Milchzuckerzusatzes, als reiner Entfärber. Offenbar aus dem Grunde, weil die Nitritbildung über die Milchzuckerspaltung, die immerhin schwächer ist als beim *Bacterium coli*, die Oberhand behält. Trotzdem kann der Säurefuchsinagar auf dem Gebiete der Choleradiagnose nicht mit den speziell dafür angegebenen elektiven Nährböden konkurrieren, weil er nicht, wie diese, das *Bacterium coli* ausschaltet. Wohl aber kann man ihn nach erfolgter Peptonanreicherung zur Reinigung der *Choleravibrien* von den noch anhaftenden Coli-Bacillen heranziehen. Hierzu eignet er sich — aus den angegebenen und noch anzugebenden Gründen — jedenfalls besser als der Endo-Agar.

Die eigentliche Domäne des Säurefuchsinagars ist jedoch die Typhus- und Ruhrdiagnose. Da diese Keime auf dem dunklen Grunde als helle Kolonieen mit hellem Hofe auftreten, ist ihre Erkennung äußerst leicht, von jeder Farbenreaktion unabhängig, ihre Auffindung auch bei künstlicher und selbst bei schlechter Beleuchtung gesichert. Gerade darin unterscheidet sich der Säurefuchsinagar vorteilhaft vom Conradi-Drigalskischen Nährboden. Aber auch vor dem Endo-Agar hat er, außer der Einengung des Kreises zur Differentialdiagnose kommender Keime, sowie deren leichter Erkennbarkeit, noch einen Umstand voraus, nämlich den, daß die Entfärbungsreaktion von Stunde zu Stunde zunimmt. Ist man beispielsweise nicht in der Lage, Endo-Platten sofort untersuchen zu können, so nimmt (abgesehen davon, daß man der Lichtempfindlichkeit des Endo-Agars Rechnung tragen muß) der rote Hof der Coli-Kolonieen fortgesetzt an Ausdehnung zu und überschattet farblose Kolonieen in der Nachbarschaft. Dagegen kann man Säurefuchsinagarplatten unbedenklich und ohne besondere Vorsichtsmaßregeln aufbewahren; ihre Deutlichkeit kann nur zunehmen.

Diesen Nährboden in größerem Umfange praktisch zu erproben, gab mir meine Tätigkeit als Leiter einer bakteriologischen Untersuchungsstelle im Osten während des vergangenen Sommers Gelegenheit. Doch nicht nur das; sie gab mir auch Gelegenheit, einige, dem ursprünglichen Nährboden noch anhaftende Mängel abzustellen und eine wesentliche

1) Deutsch. med. Wochenschr. 1915. No. 35.

Verbesserung in der Auswahl des zuzusetzenden Malachitgrüns einzuführen. In ersterem Punkte folgte ich dem Vorgange von Weißkopff¹⁾ in Brünn, der eine Modifikation unseres Agars angewandt und damit äußerst günstige Ergebnisse erzielt hat. Dieser Untersucher gab dem Nährboden statt der schwach alkalischen Reaktion, die ursprünglich vorgeschrieben, eine genau lackmusneutrale und wandte gleichzeitig das Säurefuchsin weniger konzentriert an. Dabei wird der Kontrast der schließlichen Entfärbung nicht ganz so schön, als bei Verwendung der ursprünglichen stärkeren Konzentration, wo die entfärbenden Kolonien wie helle Sterne an einem purpurnen Himmel hervortraten; aber sie ist — wie ich mich überzeugt habe — sicherer und tritt, was praktisch sehr wichtig, weit eher in die Erscheinung. Dauerte es bei Befolgung der ursprünglichen Vorschrift 24 Stunden bis zur Entfärbung (wovon nur der stets stark und schnell entfärbende Paratyphus eine Ausnahme machte), so tritt nach der Weißkopffschen Modifikation die Entfärbung regelmäßig schon nach 12 Stunden, d. h. über Nacht, auf. Die geringere Konzentration hat offenbar auch den Vorteil, daß man von der Qualität des Säurefuchsin unabhängig wird. Ich machte nämlich nach Veröffentlichung der eingangs erwähnten Arbeit die Wahrnehmung, daß die verschiedenen Nuancen des Säurefuchsin, und zwar auch die Präparate der bekannten Firma Grübler in Leipzig, die wir ausschließlich benützt und empfohlen hatten, erhebliche Unterschiede in der Entfärbungsreaktion aufwiesen. Von Versuchen, die einer engeren Auswahl des Präparates galten, wurde ich später durch andere Arbeiten abgelenkt, bin aber überzeugt, daß die nicht ganz gleichmäßigen Resultate, die die Nachprüfer mit unserem Nährboden hatten, lediglich auf der Art des zufällig benützten Präparates beruhten.

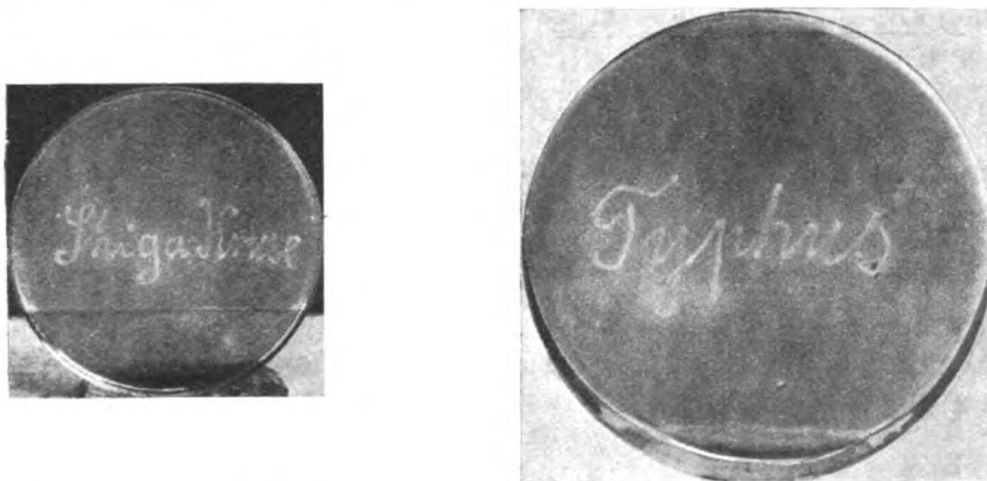
Im Begriff, die Arbeit mit Säurefuchsinagar wieder aufzunehmen und sofort den praktischen Zwecken der Untersuchungsstelle nutzbar zu machen, versuchte ich die Präparate, die ich gerade im Etappensanitätsdepot vorfand, und war dabei in doppelter Richtung vom Glück begünstigt. Einmal fand ich in dem Säurefuchsin S der Firma J. D. Riedel-Berlin ein Präparat²⁾, das eine schöne Entfärbungsreaktion gibt, und zweitens traf ich auf ein Malachitgrün — Erzeugnis der Pharmazeutischen Handelsgesellschaft Stettin — das mir auf einen Grad einzustellen gelang, wo Fäulniskeime noch deutlich zurückgehalten werden, dagegen nicht nur Typhusbacillen, sondern auch die Ruhrerreger und selbst Choleravibrionen ungehemmt wachsen. Es hat sich nämlich für die Praxis, und namentlich für die Feldpraxis als durchaus notwendig erwiesen, einen Nährboden zur Verfügung zu haben, auf dem Typhus-, Paratyphus- und Ruhrbacillen in gleicher Weise wachsen. Das eigenartige Auftreten des Typhus im Felde, zum Teil bedingt durch den Einfluß der Schutzimpfung, sowie die mannigfachen bakteriologischen Grundlagen des klinischen Bildes „Ruhr“, worauf Hirsch³⁾ mit Recht neuerdings aufmerksam gemacht hat, lassen durchaus nicht immer vermuten, welche Krankheitserreger man zu erwarten hat. So kam es, daß

1) Wien. klin. Wochenschr. 1910. No. 39. p. 1367.

2) Auf manchen Gefäßen als „Säurefuchsin Rot S“ bezeichnet. Nach Angabe der Firma ohne Unterschied.

3) Ueber Ruhr und ihre Behandlung im Felde. (Deutsch. med. Wochenschr. 1915. No. 40.)

in meiner Untersuchungsstelle mehrfach bei Stuhlproben, die mit der Verdachtsdiagnose „Typhus“ eingingen, Ruhrbacillen, und umgekehrt bei klinischem Ruhrverdacht Typhus- und Paratyphusbacillen gefunden wurden. Manche Aerzte verlegten überhaupt die Diagnose vollständig ins Laboratorium und sandten sämtliche Proben zur Untersuchung auf Typhus und Ruhr, zum Teil sogar auch auf Cholera.



Auf Säurefuchsinagar in 14 Stunden gewachsen. (Der helle Entfärbungshof ist auf der Platte nicht deutlich geworden.)

Die Herstellung des Säurefuchsinagars in seiner jetzigen Gestalt ist die denkbar einfachste. Man hält sich eine 3-proz. Stammlösung des Säurefuchsin und eine Malachitgrünlösung 1 : 10000 (hergestellt aus einer Grundlösung von 0,1 : 100) vorrätig. Dann gibt man zu 1 l genau lackmusneutralen Agars, den man durch Absetzenlassen etwas geklärt hat, 50 ccm der roten und 10 ccm der grünen Flüssigkeit, außerdem 14 g in etwa 40 ccm Wasser gelösten Milchzuckers und sterilisiert vor dem Plattengießen $\frac{1}{2}$ Stunde im Dampftopf.

Im übrigen wird der Säurefuchsinagar in seiner jetzigen Zusammensetzung auch als Trockenpräparat, das nur mit Wasser gekocht zu werden braucht, von der Kaiser Wilhelm-Akademie in Berlin hergestellt.

Die auf den bestrichenen Platten nach etwa 12 Stunden auftretenden, hellen Kolonien, deren Entfärbungszone ständig zunimmt, werden in der bekannten Weise abgeimpft und weiter verarbeitet. Als störende Beimengung, die man aber bald auf den ersten Blick unterscheiden lernt, stellen sich nicht selten, namentlich bei krankhaften Stühlen, entfärbende Kokkenkolonien ein. Diese Kolonien sind aber entweder viel größer und dicker, oder sie zeigen eine weißliche Eigenfarbe. Die Kolonien der gesuchten Krankheitserreger sind dagegen klein bis mittelgroß und zeigen nur die glasige Farbe hellen Agars. Bloß der Typhusbacillus bildet zuweilen größere, dann aber mehr flache Kolonien. Gelegentlich machen sich auch Sporenbildner auf den Platten entfärbend breit, fallen jedoch ohne weiteres durch ihr üppiges, flächenhaftes Wachstum auf. Ueberhaupt erwähne ich diese Erscheinungen nur, um keine Mißverständnisse aufkommen zu lassen. Praktisch tun solche zufälligen Ansiedlungen ähnlich wachsender Keime, die sich auf keinem Nährboden ganz vermeiden lassen, der Brauchbarkeit des Säurefuchsinagars keinen Abbruch.

Zusammenfassung.

1) Der Säurefuchsinagar ist äußerst leicht herzustellen und gegen Licht unempfindlich.

2) Der Säurefuchsinagar in seiner verbesserten Zusammensetzung ist für Typhus- und Ruhrdiagnose in gleicher Weise brauchbar.

3) Die Kolonien der gesuchten Keime erscheinen hell mit eben-solchem Entfärbungshof. Ihre Auffindung ist also von Beleuchtung und Farbenunterscheidungsvermögen unabhängig. — Besonders stark und schnell entfärbt Paratyphus. — Cholera wächst ebenfalls entfärbend, jedoch nicht elektiv. Zu ihrer Auffindung kann der Säurefuchsinagar nur nach vorausgegangener Peptonanreicherung empfohlen werden.

4) Die Entfärbungsreaktion tritt beim verbesserten Säurefuchsinagar schon nach etwa 12 Stunden, d. h. über Nacht, auf. Sie nimmt dann von Stunde zu Stunde zu. Es besteht also kein Bedenken, Platten, die man nicht sofort untersuchen kann, aufzuheben. Vielmehr ist dies höchstens von Vorteil.

Nachdruck verboten.

Notiz zur Frage der Verwendbarkeit des Pferdefleisch-agars für die Bakteriendiagnostik.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des schweizerischen Gesundheits-amtes in Bern. Wissenschaftl. Leitung: Dr. J. Thöni.]

Von Dr. H. Geiling.

In Anbetracht des bedeutend geringeren Preises des Pferdefleisch-agars gegenüber solchem aus Rindfleisch¹⁾ wäre ersterem ohne weiteres der Vorzug zu geben unter der Voraussetzung der gleichen Brauchbarkeit. Nun werden unseres Wissens auch in der älteren und neuen bakteriologischen Literatur die beiden Nähragarsorten in qualitativer Hinsicht einander so ziemlich gleichgestellt, so daß wohl angenommen werden darf, daß der Pferdefleischagar sich einer weitgehenden Benützung erfreut.

Im allgemeinen mag jene Voraussetzung zutreffen, werden doch oft noch bedeutend einfacher zusammengesetzte Nährmedien mit Nutzen verwendet. Daß es aber gewisse Fälle gibt, wo dem aus Rindfleisch hergestellten Agar der Vorzug gegeben werden muß, hat sich uns bei diagnostischen Arbeiten gezeigt.

Um zu einem Urteil über die Verwendbarkeit des Pferdefleischagars für diesen Zweck zu gelangen, wurde eine Anzahl verschiedenartiger

1) 1 Liter Nähragar aus Rind- resp. Pferdefleisch kostete in Bern im 1. Semester 1914 ca. fr. 1.80 resp. fr. 1.—, im 2. Semester 1915 ca. fr. 2.20 resp. fr. 1.40.

Mikroorganismen als Strichkulturen auf beiden Nähragarsorten bei 22° C gezüchtet und während 14 Tagen beobachtet. Dabei ergab sich, daß eine Minderzahl der verwendeten Stämme ein unterschiedsloses und charakteristisches Wachstum auf beiden Substraten zeigte, und zwar ein frisch aus Abwasser gezüchtetes *Bact. fulvum* (Zimmerm.) Lehm. et Neum., ein *Bact. erythrogenes* (Grotenfeldt) Lehm. et Neum., ein *Bact. putidum* (Flügge) Lehm. et Neum. und ein *Bact. turcosum* (Zimmerm.) Lehm. et Neum. gleicher Herkunft, ferner ein schon seit Jahren auf künstlichem Substrate fortgezüchteter *Vibrio Metschnikovii* Gamaleïa. Im besonderen die Farbstoffbildung und Fluoreszenz kamen auch auf Pferdefleischagar zur vollen Entwicklung.

Eine andere Gruppe von Kleinwesen legte eine deutliche Bevorzugung des Rindfleischagars an den Tag. Diese dokumentierte sich bei einigen Organismen in einer üppigeren Entwicklung in bezug auf Schichtdicke und Breite des Belages. Von seit längerer Zeit künstlich fortgezüchteten Bakterien sind hier anzuführen je ein Stamm von *Micrococcus pyogenes* α aureus (Ros.) Lehm. et Neum., *Bact. dysenteriae* (Shiga-Kruse) Lehm. et Neum., *Bact. typhi* Eberth, Gaffky, *Bact. alcaligenes* (Petruschky) Lehm. et Neum., *Bact. Zopfii* Kurth, ein von Früchten von *Beta vulgaris* stammendes, grampositives Kurzstäbchen und ein in Trinkwasser gefundenes, gramnegatives Kurzstäbchen, von frisch aus Abwasser stammenden ein *Bact. spumosum* Mez (?) und ein *Bact. chrysogloea* Zopf (?).

Einige andere Organismen ergaben außerdem ein mehr oder weniger hochgradiges Fehlschlagen der Farbstoffbildung auf Pferdefleischagar. So bräunte ein *Actinomyces chromogenes* Gasperini dieses Substrat weniger intensiv, ein Stamm von *Bact. latericium* (Adametz) Lehm. et Neum., der, schon seit längerer Zeit künstlich fortgezüchtet, eben im Begriffe stand, sein Farbstoffbildungsvermögen einzubüßen, wuchs auf Rindfleischsubstrat schmutzig-rosarot, auf Pferdefleischagar nur noch grau. Ein anderer *Latericium*-Stamm sowie ein solcher von *Bact. prodigiosum* (Ehrenberg) Lehm. et Neum. gediehen auf ersterem Nährboden zinnob- resp. purpurrot, auf letzterem nur fleischfarben resp. granatrot.

Eine *Sarcina lutea* Flügge em. Lehmann et Stubenrath kam auf Rindfleischsubstrat zu sehr üppiger Entwicklung, sie ergab einen 3—5 mm breiten, leuchtend zitronengelben, stark erhabenen, saftig glänzenden und glattrandigen Belag; auf solchem aus Pferdefleisch erreichte er nur 1,5—3 mm Breite, war schmutzig-schwefelgelb, etwas erhaben, saftig oder mattglänzend und glattrandig.

Besonders auffallend verhielt sich ein frisch aus Abwasser gewonnener zweiter Stamm von *Bact. erythrogenes* (Grotenfeldt) Lehm. et Neum. Dieser bildete auf Rindfleischagar einen breiten, hellockergelben, etwas erhabenen Belag mit stark erhabenen transversalen Falten, matt, glattrandig, wobei der Nährboden intensiv weinrot verfärbt wurde; auf Pferdefleischagar hingegen einen zitronengelben, ziemlich flachen Belag mit granulierter Oberfläche ohne Faltenbildung, matt, gelapprandig, unter Ausbleiben der weinroten Verfärbung des Substrates. Es ist also in diesem Falle das für die Diagnose ausschlaggebende Merkmal bei der Zucht auf Pferdefleischagar ausgeblieben, während die Verwendung des Rindfleischnährmediums dasselbe zu voller Entwicklung brachte.

Endlich prüften wir eine Schar frisch aus Abwasser erhaltener, einander ziemlich nahestehender Kurzstäbchen in den beiden diesmal in Form von Fleischbrühe verwendeten Nährsubstraten auf ihr Schwefelwasserstoffbildungsvermögen. In 2 Fällen ist die H_2S -Bildung in Pferdefleischbouillon gänzlich unterblieben, während sie in Rindfleischsubstrat durch intensive Schwärzung des Papierschnittzels sinnfällig wurde. Es handelt sich um einen dem *Bact. alcaligenes* und einen dem *Bact. enteritidis* (Gärtner) Lehm. et Neum. nahestehenden Mikroben.

In Anbetracht dieses Versagens des Pferdefleischsubstrates in gewissen Fällen muß also von der Verwendung dieses Nährbodens für bakteriendiagnostische Zwecke abgeraten werden.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Bujwid, Odo, Differenzierung von Bakterienkulturen mit H_2O_2 , p. 440.
Chang Chia-pin, Ueber das agglutinatorische Verhalten der Sera von gesunden (bzw. nicht an Typhus oder Paratyphus leidenden) Chinesen gegenüber Typhus- und Paratyphusbacillen, p. 435.
Geiling, H., Notiz zur Frage der Verwendbarkeit des Pferdefleischagars für die Bakteriendiagnostik, p. 446.
Kindborg, E., Verbesserter Säurefuchsinagar zur Typhus- und Ruhrdiagnose, p. 442.
Kostrzewski, J., Ein akuter Malleusfall beim Menschen mit positiver Blutkultur, p. 418.

Luft, M., Ueber eine Rückfallfieberepidemie, p. 425.
Markoff, Wl. N., Putride, durch einen bisher unbekannten Anaërobier, *Bacillus anaërobium haemolysans*, verursachte Mundinfektion, p. 421.
Pommer, Gustav, Antwort auf die Erwiderung Prof. Dr. E. Fraenkels in Heft 4. Bd. 77 dieses Centralblattes, p. 420.
Schmitt, K. E. F., Die Verwandlungsfähigkeit der Bakterien. Experimentelles und Kritisches mit besonderer Berücksichtigung der Diphtheriebacillengruppe, p. 369.

**Ueber eine neue Gruppe typhusähnlicher, farbstoff-
bildender Bakterien.**

[Aus dem Kgl. Institut für Hygiene und Infektionskrankh. in Saar-
brücken. (Stellvertr. Direktor: Prof. Dr. E. Gotschlich.)]

Von **Dr. Hermann v. Hövell,**

Kgl. Kreisassistentenarzt in Berlin, ehemaligem Assistenten beim Institut.

In unserem Institut werden seit geraumer Zeit für die Typhusdiagnose im Stuhl und Urin nicht mehr Drigalski-, sondern nur Endo-Platten verarbeitet, da sie billiger herzustellen und auch in den Abendstunden vorteilhaft zu verwenden sind, denn die hellen Typhus- und Paratyphuskolonien lassen sich auch bei künstlicher Beleuchtung auf ihnen gut von den Coli-Kolonien unterscheiden. Wenn wir auf den Endo-Platten farblose Kolonien finden, so wird von diesen, auch wenn sie nicht agglutinieren, eine Reinkultur auf Endo angelegt. Diese Methode der Verarbeitung hat den Vorteil, daß man die eventuell nicht agglutinierenden Stämme nicht übersieht und ferner bisweilen wissenschaftlich interessanten Stämmen begegnet. Eine auffallende, von uns häufig beobachtete Gruppe von typhusähnlichen Bakterien, die hinsichtlich ihres morphologischen und biologischen Verhaltens eine gewisse Mittelstellung zwischen dem Typhusbacillus und dem *Bacillus faecalis alcaligenes* einnimmt, ist anscheinend wenig bekannt, jedenfalls haben wir in der Literatur nichts darüber gefunden. Ihre wesentlichsten charakteristischen Eigenschaften sollen daher in folgendem beschrieben werden:

Bei der Untersuchung der mit Stuhl oder Urin beschickten, 24-stündigen Endo-Platten findet man helle, zarte, glasige Kolonien, die sich auch für das Auge des Geübten in nichts von denen des Typhusbacillus unterscheiden. Desgleichen zeigt die auf Endo angelegte Reinkultur meistens alle Kriterien einer Typhusreinkultur, bis auf einen leicht gelblichen Schimmer, welchen auch die Kolonien auf der Stuhl- oder Urinoriginalplatte nach 48-stündigem Wachstum aufweisen. Besonders ins Auge fallend ist diese Färbung, welche gegenüber anderen typhusähnlichen Stämmen das Hauptcharakteristikum bildet, naturgemäß des Farbengegensatzes wegen auf dem Drigalski-Nährboden, welchen wir jedoch, wie bereits oben bemerkt wurde, im allgemeinen nicht mehr verwenden. Da wir diesen farbstoffbildenden Bakterien häufiger, schätzungsweise nahezu ebenso oft wie der Gruppe des bekannten *Bacillus faecalis alcaligenes* begegneten, so wurden dieselben einer systematischen Untersuchung unterzogen, welche folgendes ergab:

Es handelt sich um ein kurzes Stäbchen mit abgerundeten Enden, von etwa 1—3 μ Länge, mit allen Anilinfarben leicht färbbar, gramnegativ, von lebhafter Eigenbewegung, welche bei den verschiedenen Stämmen etwas variiert; Sporenbildung wurde nicht beobachtet. Das Wachstum auf Agar ist dem des Typhusbacillus sehr ähnlich, zart; es bildet sich ein feuchter, durchsichtiger Rasen, der jedoch nach längerer

Tabella I.

	Agar	Lackmus- molke	Trauben- Milch- zucker- bouillon	Loeffler I	Loeff- ler II	Barsie- kow I	Bar- sie- kow II	Hetsch	Neu- tralrot- agar	Milch	Mannit- Maltose- Saccha- rose	Gram	Beweg- lichkeit	Indol
8394	zart gelb- lich	blau nach 5 Tagen	Gasbildung negativ	nach 48 Std. streifig ko- aguliert	unver- ändert	koaguliert n. 48 Stunden	unver- ändert	kein Gas koaguliert n. 4 Tagen	unver- ändert	klumpig koaguliert	Säure- bildung	—	++	—
4393	do.	do.	do.	do.	do.	koaguliert n. 72 Stunden	do.	koaguliert n. 9 Tagen	do.	do.	do.	—	++	—
4331	"	"	"	"	"	do.	"	koaguliert n. 4 Tagen	"	"	"	—	+	—
4371	"	"	"	"	"	koaguliert n. 48 Stunden	"	do.	"	"	"	—	+++	—
4262	"	blau nach 7 Tagen	"	"	"	do.	"	"	"	"	"	—	++	—
4788	"	do.	"	"	"	"	"	koaguliert n. 3 Tagen	"	"	"	—	++	—
4528	"	"	"	nach 72 Std. koaguliert	"	koaguliert n. 72 Stunden	"	koaguliert n. 4 Tagen	"	"	"	—	++++	—
4813	"	blau nach 3 Tagen	"	nach 48 Std. koaguliert	"	koaguliert n. 48 Stunden	"	do.	"	"	"	—	+++	—
6817	"	blau nach 7 Tagen	"	nach 72 Std. koaguliert	"	do.	"	koaguliert n. 9 Tagen	"	"	"	—	++++	—
8413	"	blau nach 5 Tagen	"	nach 48 Std. koaguliert	"	koaguliert n. 4 Tagen	"	koaguliert n. 9 Tagen	"	"	"	—	++++	—
5151	"	blau nach 4 Tagen	"	do.	"	koaguliert n. 24 Stunden	"	do.	"	"	"	—	++	—

als etwa 20-stündiger Bebrütungsdauer einen schwach gelblichen Farbenton annimmt. Ältere Kulturen werden etwas undurchsichtiger, intensiver gelb und bilden nach einiger Zeit gelbliche Kristalle. Besonders schön ist die gelbe Farbe der Kolonien als ein leuchtendes Eigelb auf Loeffler-Serum, worauf die Bakterien gut gedeihen, wahrzunehmen. Gelatine wird nicht verflüssigt, auf der Oberfläche der Gelatineplatte bilden sich kreisrunde, gelbe Kolonien ohne feinere Struktur, insbesondere findet sich eine Weinblattform nicht. Der Gelatinestich, welcher ebenfalls keinerlei charakteristische Besonderheiten, wie Verästelungen usw. aufweist, zeigt, daß es sich um ein fakultativ anaerobes Bakterium handelt. Die Bouillonkultur zeigt eine gleichmäßige Trübung, eine Oberflächenhaut wird nicht gebildet, ebenso fehlt eine Indolbildung, auch besitzen die Kulturen keinen Geruch. Interessant ist das Verhalten der Bakterien in der Lackmusmolke. Dieselbe wird nach 24 Stunden ohne Trübung schwach gerötet, nach etwa 48 Stunden zeigt sie wieder ihren ursprünglichen, violetten Farbenton, welcher nach 3 bis 7, meist nach 5 Tagen in blau umschlägt. Die Blaufärbung wird allmählich stärker; nach 8 Tagen erscheint die Lackmusmolke etwas getrübt und intensiv blau gefärbt. Weder in Trauben-, noch in Milchsuckerbouillon findet eine Gasbildung statt. In der Milch bilden sich nach 8—10 Tagen bei alkalischer Reaktion klumpige Koagula ohne Abscheidung einer klaren Molke. Saccharose, Mannit und Maltose werden unter Säurebildung zersetzt, die ersten beiden Zuckerarten leichter als die Maltose. In Neutralrotagar wird kein Gas gebildet, er bleibt unverändert. Loefflersche Grünlösung I (Typhuslösung) wird nach 24 bis 72 Stunden streifig, mit geringem, grüngefärbten Bodensatz und darüberstehender, klarer, farbloser oder schwach grünlich gefärbter Flüssigkeit zum Gerinnen gebracht, Loefflersche Grünlösung II (Paratyphuslösung) wird nicht verändert, in Traubenzuckernutroselackmuslösung (Barsiekow I) wird Säure gebildet und es tritt Rotfärbung und Gerinnung ein, Milchsuckernutroselackmuslösung (Barsiekow II) bleibt unverändert. Mannitnutroselackmuslösung (Hetsch) wird ohne Gasbildung gesäuert und zum Gerinnen gebracht.

Sämtliche geprüften Stämme zeigten kulturell das gleiche Verhalten; sie erwiesen sich jedoch nicht als arteneinheitlich, wie die serologische Prüfung ergab:

Eine Agglutination der Stämme durch Typhus-, Paratyphus-, Shiga-, Flexner-, Y-Ruhr- oder Gärtner-Serum fand in keinem Falle statt. Die mit 5 Stämmen durch Immunisierung von Kaninchen gewonnenen agglutinierenden Sera beeinflussten sämtlich den eigenen, homologen Stamm bis zu einer Verdünnung von 1:1000. Die Auswertung der 5 Sera mit 10 Bakterienstämmen der oben beschriebenen Gruppe ergab in 50 Versuchsreihen nur 3mal einen positiven Ausfall der Agglutination bis 1:1000, welche in 2 Fällen ein und denselben Stamm betraf (vgl. Tabelle II). Hieraus geht also hervor, daß die Bakteriengruppe, welche vom kulturellen Standpunkt aus einheitlich erschien, nicht der gleichen Art angehört. Es sei noch bemerkt, daß die mit den beschriebenen Bakterien gewonnenen Sera Typhus-, Paratyphus-, Ruhr-, Gärtner- und *Bac. faecalis alcaligenes*-Stämme nicht agglutinierten.

Meerschweinchen vertrugen 1 Normalöse lebender Kultur bei subkutaner und intraperitonealer Einverlebung, ebenso erwiesen sich die Stämme für weiße Mäuse und Kaninchen als nicht pathogen.

Tabelle II.

Serum gewonnen mit	Agglutiniert mit Stamm No.										
		4393	4783	4528	8394	4331	4371	4262	4813	4817	5151
Stamm 4393	$\frac{1}{10}$	+	—	+	+	+	—	—	—	+	+
	$\frac{1}{50}$	+	—	+	—	+	—	—	—	+	—
	$\frac{1}{100}$	+	—	+	—	—	—	—	—	+	—
	$\frac{1}{1000}$	+	—	+	—	—	—	—	—	+	—
„ 4371	$\frac{1}{10}$	+	—	+	+	—	+	—	—	—	—
	$\frac{1}{50}$	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—
	$\frac{1}{100}$	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
	$\frac{1}{1000}$	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
„ 4813	$\frac{1}{10}$	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
	$\frac{1}{50}$	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
	$\frac{1}{100}$	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
	$\frac{1}{1000}$	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
„ 4817	$\frac{1}{10}$	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—
	$\frac{1}{50}$	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—
	$\frac{1}{100}$	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—
	$\frac{1}{1000}$	—	—	+	—	—	—	—	—	+	—
„ 5151	$\frac{1}{10}$	—	—	+	—	—	—	—	—	+	+
	$\frac{1}{50}$	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+
	$\frac{1}{100}$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
	$\frac{1}{1000}$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+

Es handelt sich also bei der vorstehend beschriebenen Bakteriengruppe um Mikroorganismen, welche viele kulturelle Merkmale (zarte, glashelle Kolonien auf Endo und Drigalski, Gramnegativität, Eigenbewegung, Stäbchenform, Nichtvergären von Trauben- und Milchsucker, Fehlen von Indolbildung) mit dem Typhusbacillus gemeinsam haben, sich von ihm aber durch das Wachstum auf Gelatine und die Bildung eines gelben Farbstoffes, sowie Alkalibildung in der Lackmuskolke, nach anfänglicher Säuerung, unterscheiden. In letzterer Beziehung zeigen sie ein ähnliches Verhalten wie der Paratyphus B-Bacillus.

Ich fand diese Stämme in Stühlen und Urinen etwa gleich häufig, unter 13 Fällen 6mal im Stuhl und 7mal im Urin, und zwar 2mal bei Ruhrkranken, je 1mal bei Typhus- und Paratyphuskranken, 3mal bei Typhusbacillenträgern und 5mal bei gesunden Personen in der Umgebung Typhuskranker.

Diese Umstände sowie das serologische Verhalten der Stämme lassen mit Sicherheit annehmen, daß es sich lediglich um akzidentelle Befunde handelt, und daß insbesondere diesen Bakterien eine pathogene Bedeutung oder eine direkte Beziehung zum Typhusbacillus nicht zukommt. Trotzdem ist die Kenntnis dieser Stämme infolge ihrer Typhusähnlichkeit von praktischem Wert für die Diagnose.

Nachdruck verboten.

Endemisch auftretende Leberabszesse bei Verwundeten, verursacht durch einen anaëroben Bacillus.

[Aus dem I. pathologisch-anatomischen Institut in Budapest.]

Von Prof. Dr. **K. Buday**, Budapest.

Mit 6 Figuren im Text.

In einer kleinen ungarischen Stadt, Balassagyarmat, unweit von Budapest, sind im Jahre 1915 mehrere Fälle von höchst eigentümlichen Erkrankungen vorgekommen, welche in kurzer Zeit letal endeten. Die Erkrankten waren mit eiternden Schußverletzungen in das Spital des Roten Kreuzes gekommen, sonst aber boten sie keine Zeichen einer besonderen Wundinfektion, als plötzlich ein hohes Fieber eintrat; zugleich zeigten sich die Symptome einer schweren Sepsis, und der Tod erfolgte meistens 10—14 Tage nach dem initialen Schüttelfrost. Bei der Sektion fanden sich in jedem Falle Leberabszesse, zumeist in großer Zahl, außerdem ziemlich oft Lungenabszesse, viel seltener Abszesse anderer Organe. Im ganzen sind etwa 24 solcher Fälle beobachtet worden, welche ziemlich gleichmäßig auf die nacheinanderfolgenden Monate des Jahres verteilt aufgetreten sind; die Mortalität betrug gegen 66 Proz., bloß einige Fälle heilten durch Einkapselung der Leberabszesse oder durch Perforation derselben in die Bronchien. Durch die Zuvorkommenheit des Herrn Dr. Aladár Bogdán, welcher als Leiter des Krankenhauses diese Fälle beobachtete, kam ich in die Lage, die bakteriologische Untersuchung mehrerer Leberabszesse auszuführen, über deren Ergebnis ich hier kurz berichten will.

Bedauerlicherweise konnte die Genese dieser kleinen Endemie nicht gehörig aufgeklärt werden, da die Entfernung von Budapest die Beschaffung und Bearbeitung des Materials in Kriegszeiten recht ungünstig beeinflusste. Trotzdem halte ich es für nützlich, auf diese Form der Pyämie aufmerksam zu machen, um dadurch auch die Publikation etwaiger ähnlicher Erfahrungen seitens anderer Beobachter anzuregen.

I. Geschichtliches, klinische Symptome.

Der erste Fall wurde am 3. Januar 1915 in das Spital aufgenommen: Der 31-jährige Reservist hatte eine Schußverletzung der rechten Schulter; es stellte sich bald ein intermittierendes Fieber ein, welches sich sukzessive steigerte; der Tod erfolgte am 3. März. Die Sektion konstatierte einen großen Leberabszeß, mit Durchbruch in die rechte Pleurahöhle. Nach einer Woche starb daselbst ein 33-jähriger Infanterist, welcher mit einer Schußwunde des rechten Oberarmknochens seit 15. Dez. 1914 dort gepflegt wurde. Bei der Sektion fand sich auch ein großer Leberabszeß, begleitet von einer rechtsseitigen Pleuritis. In demselben Monate kam noch ein dritter Fall dazu; ein 22-jähriger Infanterist mit einer Schußwunde des linken Unterarmes bekam plötzlich hohes Fieber und leichten Ikterus und starb nach 2 Wochen; die Sektion fand bei ihm einen faustgroßen und mehrere kleinere Leberabszesse, außerdem kleinere Abszesse in der Milz und in den Lungen. (Von diesem Fall wurde uns das erste Mal Untersuchungsmaterial eingesendet.)

In keinem Falle waren Symptome einer Darmaffektion nachweisbar, auch die Sektionen zeigten nichts besonderes in dem Intestinaltrakt. Auffallend war andererseits, daß man auch an den Schußwunden keine besondere Reaktion bemerken konnte, so daß eine Wundinfektion nicht ohne weiteres anzunehmen war.

Im Monat März kam noch ein vierter Todesfall, dann kamen in den letzten 9 Monaten des Jahres noch je 1 oder 2 Fälle monatlich vor; die beständigsten Symptome waren ein plötzlich eintretendes, hohes Fieber, welches manchmal einen intermittierenden Charakter hatte, dann rechtsseitige Schmerzen, von der Lebergegend in die Schulter ausstrahlend, Ikterus und die Zeichen einer allgemeinen, schweren Sepsis. Alle Kranken kamen vom Schlachtfelde mit Schußverletzungen, zumeist waren im Schußkanal auch die Knochen zersplittert. In keinem Falle schloß sich die Schußwunde aseptisch, sonst aber bot sie außer einer mäßigen Eiterung, welche eine Drainage nötig machte, keine äußeren Zeichen einer schweren Wundinfektion. Oefters wurden die Kranken schon mehrere Wochen lang dort gepflegt und waren fieberlos, oder hatten bloß unbedeutendes Fieber, als plötzlich der Schüttelfrost den Anfang der tückischen Krankheit ankündigte, welcher der Kranke bald zum Opfer fiel.

Zu erwähnen ist noch, daß die ersten Fälle in dem provisorisch eingerichteten Roten Kreuz-Spital aufgetreten sind, während später auch in dem unlängst erbauten, modernen Komitatsspital einige Fälle vorkamen und ebenso schwer verlaufen sind. Einige Beobachtungen scheinen dafür zu sprechen, daß Kranke, die miteinander verkehrten, durch Besuch ihrer kranken Kameraden sich der Infektion aussetzten. Unter den nicht verwundeten Kranken des Spitals, oder unter denjenigen Verwundeten, welche keine Schußwunden hatten, kam nicht eine einzige derartige Erkrankung vor.

Diejenigen Leser, welche sich für den klinischen Verlauf dieser Infektionen näher interessieren, will ich auf den diesbezüglichen Artikel des Herrn A. Bogdán, welcher demnächst in der Med. Klinik erscheinen wird, aufmerksam machen.

II. Pathologisch-anatomische Veränderungen.

Die meisten Sektionen wurden durch die Aerzte des Spitals gemacht, so daß ich die meisten diesbezüglichen Daten den Informationen der genannten Herren verdanke. Der ständige Befund der Autopsien war der Leberabszeß, welcher in keinem der Fälle fehlte. Etwas weniger häufig, immerhin oft genug, fanden sich Abszesse der Lungen. Bedeutend seltener waren die Abszesse der Milz, der Muskeln und eiterige Gelenksentzündungen. In der Umgebung der Schußwunden konnten die Zeichen einer stärkeren Wundinfektion, z. B. phlegmonöse oder gangränöse Entzündung, eiterige Thrombophlebitis, in keinem Falle festgestellt werden. Sehr oft wurde von den Leber- und Lungenabszessen das Peritoneum und die Pleura in Mitleidenschaft gezogen, sonst boten sich die Zeichen einer akuten Infektionskrankheit: weiche, dunkelrote Milz, parenchymatös degenerierte Nieren. Seitens der Gedärme war nichts aufgefallen, was eine Erklärung für die Leberabszesse geben konnte, insbesondere fehlten Verschorfungen und Geschwüre im Darm völlig.

In Folgendem will ich über 2 Sektionen berichten, die so ziemlich die 2 Haupttypen des pathologisch-anatomischen Bildes illustrieren. Die erste dieser Sektionen wurde durch W. Boér, Assistenten unseres Institutes, am 9. April gemacht.

Der 25-jährige Infanterist wurde am 13. Jan. 1915 mit einer heilenden Schußwunde des rechten Oberarmes aufgenommen; am 22. März bekam er plötzlich hohes Fieber, rechtsseitige Schmerzen der Lebergegend; am 26. März schwellen mehrere Gelenke an. Sein Zustand verschlimmerte sich sehr schnell, er bekam fast täglich einen Schüttelfrost, sein Bewußtsein war zuletzt gestört.

Bei der Sektion fand sich in der Leber bloß ein haselnußgroßer Abszeß, in den Lungen waren mehrere kleine Abszesse mit eiteriger Pleuritis in der Umgebung. Außerdem sah man noch eine eiterige Entzündung des linken metatarsophalangealen Gelenkes und des rechten Sternoclaviculargelenkes, die letztgenannte drang phlegmonös in die Halsmuskeln hinein. Der Intestinaltraktus erwies sich als normal; keine Zeichen eines überstandenen Typhus oder Dysenterie. Am Oberarm ein drainierter Wundkanal, welcher in eine wallnußgroße Höhle führt.

Während dieser Fall pathologisch-anatomisch den Eindruck einer gewöhnlichen Septikopyämie machte, war der Befund in einem anderen Falle, welchen ich selbst

sezierte, ein wesentlich anderer. Ein 19-jähriger Infanterist wurde mit einer eiternden Schußwunde des linken Fußes aufgenommen; er war fieberlos, munter, als ganz unerwartet nach einem Schüttelfrost 40° hohes Fieber auftrat. Er hatte Schmerzen in der Magengegend, dann in der rechten Schulter, am 6. Tage war die Leberdämpfung vergrößert, zuletzt kam Meteorismus und Druckempfindlichkeit des Bauches, Tod am 17. September, am 11. Tage nach dem Initialschüttelfrost. Zur Sektion bin ich nach Balassagyarmat gefahren und fand folgendes:

Die Leiche leicht ikterisch, die Milz bedeutend größer, weich, zerreiblich. Die Leber mit der Umgebung lose verklettet, zwischen Leber und Magen etwas dickfließender Eiter, das Peritoneum mit eiterigem Fibrinüberzug bedeckt. Die Leber durch mehrere, bis gänseeigroße Abszesse stark vergrößert; über die Beschaffenheit dieser Leberabszesse berichte ich später ausführlich. In beiden Lungen mehrere kleine Abszesse mit pneumonischem Hof, in den Pleurahöhlen etwas eiterig-fibrinöses Exsudat. Sonst konnte ich nirgends Abszesse finden; in den Nieren Zeichen einer akuten, parenchymatösen Entartung. Magen, Darm, auch Rektum und Appendix waren völlig normal, ebenso die Vena portae und die Gallengänge. In der Tiefe der Schußwunde eine übelriechende Eiterung, welche in das Knochenmark des Os cuboideum sich fortsetzte, die Venen waren in der Umgebung intakt, ohne Zeichen einer eiterigen Thrombophlebitis.

Hier dominierten also stark die Leberveränderungen, daneben waren nur noch Abszesse in den Lungen vorhanden; nach unseren Informationen war dieser Befund in den weitaus meisten Fällen feststellbar, während die Fälle vom ersten Typus, d. h. mit metastatischen Eiterungen recht verschiedener Organe, relativ selten vorkamen.

Ueber Lokalisation und gröbere Struktur der Leberabszesse kann ich folgendes berichten: Die größten Abszesse bildeten sich meist im oberen Teil des rechten Lappens, nahe zum Ligamentum triangulare (Fig. 1); in mehreren Fällen waren die Abszesse sehr zahlreich und in den verschiedensten Teilen der Leber auffindbar. Ihr Inhalt war ein dickflüssiger, geruchloser Eiter von eigentümlicher goldgelber Farbe; es fehlte die lebhaft

grünlichgelbe Farbe der gewöhnlichen Eiterungen, oder die tief orange-grünliche Farbe der Gallengangabszesse, ebenso die schmutzig-bräunliche Farbe der ichorösen Entzündungen. Je schneller die Krankheit ablief, desto mehr war auffallend, daß die eiterige Einschmelzung relativ gering, dagegen die nekrotische Erweichung der Lebersubstanz sehr ausgiebig war. Oft sah man bloß eine ausgedehnte, fahlgelbe Nekrose mit beginnender Demarkation; die ganz akuten Abszesse waren oft von zahlreichen kleinen Abszeßchen zusammengesetzt, die etwa die Größe und Form der Leberläppchen hatten.

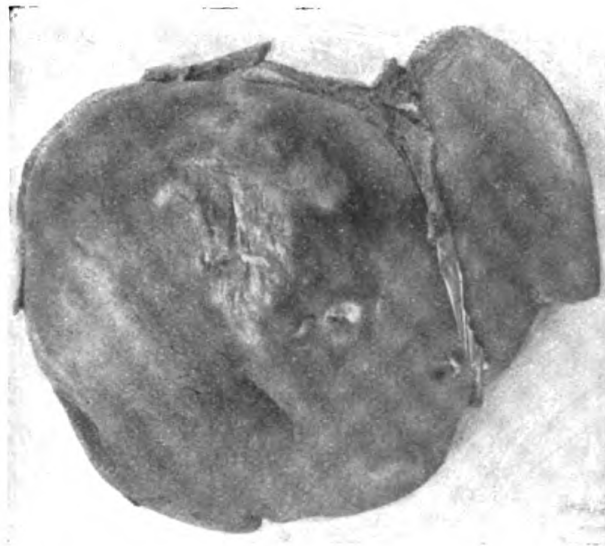


Fig. 1. Leber mit Abszessen aus dem Falle vom 17. September.

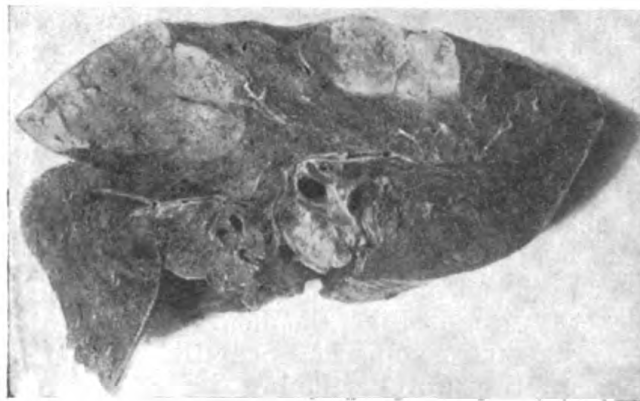


Fig. 2. Lungenherde aus demselben Falle wie Fig. 1.

Auch die Lungenveränderungen zeigten eher das Bild einer Kolliquationsnekrose, als dasjenige eines typischen Abszesses; sonst machten diese Nekrosen durch ihre subpleurale, oberflächliche Lage und ihre dreieckige Form den Eindruck eines septischen Infarktes; der umgebende pneumonische Hof verleiht aber den Lungenherden eine rundliche Gestalt, sie heben sich ziemlich scharf von der Umgebung ab (Fig. 2).

III. Histologische und bakteriologische Untersuchungen.

Das Hauptinteresse bezog sich auf den bakteriologischen Inhalt der Leberabszesse, welche sozusagen den charakteristischen Befund dieser Erkrankungen bildeten. Gleich der erste untersuchte Fall war insofern bezeichnend, als in dem Lebereiter die pyogenen Eiterkokken völlig fehlten, dagegen waren in sehr großer Zahl gramnegative Bacillen vorhanden von recht kleinen Dimensionen, manche nicht größer als die

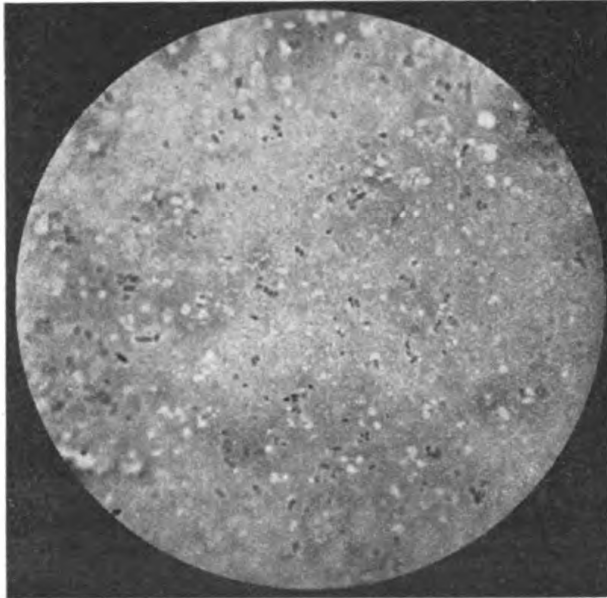


Fig. 3. Bacillen aus einem Leberabszeß-Strichpräparat, Fuchsinfärbung; man sieht Bacillen zum Teil mit Polfärbung.

Influenzabacillen (Fig. 3), manche etwas größer, an den Enden mit Polfärbung, so daß sie den Pestbacillen ähnlich waren. Sie bildeten auch kurze Ketten; diese Streptobacillenform kommt aber mehr ausnahmsweise vor. Auffallend war die blasse Färbung der Bacillen; oft färbten sich die Bacillen nur fleckig, etwa wie Diphtheriebacillen.

In den folgenden Fällen boten die Leberabszesse immer das nämliche Bild. Im ganzen konnten wir 8 verschiedene Fälle untersuchen; die pyogenen Kokken fehlten in jedem Falle, während die sehr zahlreichen gramnegativen Bacillen immer durch ihre Kleinheit, häufige Polfärbung und schwere Färb-

barkeit auffielen. Längere Fäden konnte ich ebenso wenig finden als Sporen oder Kapseln, dagegen waren die Involutionsformen recht häufig; manche Bacillen schwollen so breit auf, daß die stärker gefärbten Polteile beinahe halbmondförmig waren. In 2 Fällen fand ich neben der überwältigend großen Menge der kleinen Bacillen auch einige längere, dickere, grampositive Bacillen.

Die mikroskopischen Schnitte aus der Leberabszeßwand zeigten eine sehr interessante Verteilung der Bakterien (Fig. 4). In den rasch tödlich ablaufenden Fällen war der größte Teil des Abszesses detritusartig zerfallen, eine Kernfärbung fehlte gänzlich, nur mit Mühe erkennt man hier die Reste der zerfallenen Leberzellen und dazwischen die ebenfalls zerstörten Leukocyten; auch die Bakterien sind hier schwer zu erkennen; sie färben sich recht schwer. Am Rande des Abszesses sieht man plötzlich riesige Mengen von Bakterien, förmliche Zoogloen bildend, welche sich zumeist zwischen die Leberzellen einkeilen. Diese Bakteriensäulen sind zumeist radiär gestellt, so daß es den Anschein hat, als wären die Kapillaren durch die Bakterienmassen injiziert. Diese radiär gestellten,

zylindrischen Bakterienzoogloen konnte ich in 5 akuten Fällen mikroskopisch nachweisen, so daß auch in dieser Hinsicht diese Fälle eine frappante Aehnlichkeit feststellen ließen. Nach außen von dieser Zone sieht man in Mengen gut gefärbte Bakterien, Leukocyten mit Fibrin gemischt. Etwas langsamer verlaufende Fälle zeigen außerdem noch eine äußerste Granulationszone; in solchen subakuten Fällen sind die Bakterien weniger zahlreich und die eitrige Demarkation ist mehr vorgeschritten.

In den nach Giemsa gefärbten Schnitten fallen die dunkelblauen Bakterienmassen schon bei Lupenvergrößerung auf; sie werden durch kleine Bacillen gebildet, mit abgerundeten Ecken und meistens mit sehr deutlicher Polfärbung. Gegen die Mitte des Abszesses nimmt ihre Färbbarkeit rasch ab, doch sieht man auch hier noch ziemlich viele feine Bacillen, zum Teil mit Polfärbung. Auch dort, wo die Bakterien kompakte Massen bilden, ist ihre Färbbarkeit oft eine auffallend schlechte; man kann kaum ihre Form erkennen. Dagegen fällt auf, daß an einigen Orten die gut gefärbten Bakterien zu längeren Fäden ausgewachsen sind. Nach Gram entfärben sich alle Bakterien ohne Ausnahme.

Die Lungenabszesse enthalten meist dieselben Bakterien in großer Menge, besonders am Rande der Herde, die durch ihre schlechte Kernfärbung und ihre detritusartige Verschwommenheit eher den Eindruck einer Gangrän, als denjenigen eines richtigen Abszesses machen; die Eiterung erscheint auch hier eher als eine Demarkationszone eines gangränösen Herdes. Ueberhaupt ist die Bakterienflora der Lungenherde weniger typisch; man sieht außer den feinen, bipolar gefärbten Bacillen manchmal auch längere, dickere Bacillen, die sich gleichmäßig gut färben. Doch waren in einem pleuritischen Exsudat die kleinen Bacillen mit Polfärbung beinahe ausschließlich vorhanden.

In den Gelenk- und Muskeleiterungen fanden sich dieselben Bakterien, wie in der Leber, sogar die radiär gestellten, zylindrischen Bakterienhaufen am Rande der Muskelabszesse glichen völlig jenen der Leberabszesse.

IV. Kulturelle Eigenschaften.

Die mikroskopischen Untersuchungen konstatierten also das beständige Vorkommen eines Bacillus, welcher der Größe und Form nach die größte Aehnlichkeit mit den Influenza- und Pestbacillen zeigte.

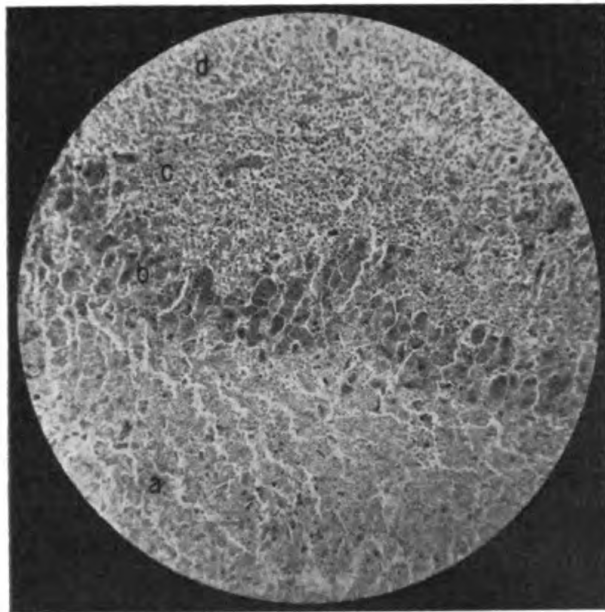


Fig. 4. Schnitt aus einem Leberabszeß; schwache Vergrößerung. *a* nekrotisches Zentrum, *b* Zone der Bakterien säulen, *c* Leukocyteninfiltration, *d* Lebersubstanz.

Unsere Versuche, ihn zu kultivieren, hatten lange Zeit keinen Erfolg. Die verschiedensten aëroben Züchtungsmethoden schlugen fehl; Agar, Blutserum, Heyden-Agar, Bouillon, mit Blut bedeckte Agarröhren erwiesen sich zur Kultivierung nicht geeignet. Auch einige anaërobe Methoden, und zwar Hydrogenatmosphäre, Buchnersche Pyrogallusröhren, Traubenzuckeragar in hoher Schicht, hatten keinen besseren Erfolg. Die erste gelungene Kultur bekam ich nicht unmittelbar aus einer Lebereiterung, sondern aus dem Abszeß eines Tierversuches. Der Fall, aus welchem diese Tierversuche hervorgingen, bezieht sich auf einen 18-jährigen Infanteristen mit eiternder Schußwunde des Unterschenkels; nach einer längeren Zeit geringen Fiebers bekam er plötzlich ein solches von 40° C mit heftigen Kreuzschmerzen und Ikterus, Tod am 11. April, am 11. Tage der Erkrankung. Die Sektion konstatierte einen großen Abszeß des rechten Leberlappens und pleuritischen Exsudat; der Eiter enthielt die typischen Bacillen; da aber die Kulturversuche wieder erfolglos blieben, impften wir aus dem mit Bouillon verdünnten Eiter ein Kaninchen in die Ohrvene. Das Tier ging in 4 Tagen zugrunde, die Sektion wies äußerst zahlreiche, kleine Leberabszesse nach, mit den charakteristischen Bacillen. Aus diesem Material wurden neue Kaninchen geimpft, die teils an Leberabszessen, teils an Gelenk- und Muskelabszessen verendeten. Von der 4. Generation des Tierversuches konnte ich das erste Mal eine erfolgreiche Kultur machen, und zwar in hochgefüllten Röhren, die zu 1 Teil Blutserum 2 Teile Agar enthielten. Im Thermostat entwickelte sich in etwa 40–48 Stunden längs dem Impfkanal eine Kultur, erst 2 cm unter der Agarfläche angefangen, also nach Art eines typischen Anaëroben; die einzelnen, feinen Kolonien der Stichkultur vergrößerten sich später allmählich, blieben aber gegeneinander abgesondert. Mikroskopisch sieht man sehr feine, schwer färbare, gramnegative Bacillen mit Polarfärbung.

Diese Kultur konnte ich einige Generationen lang fortführen, dann war sie nicht weiter zu züchten.

Der zweite Fall, in dem die Kultur der Bacillen gelang, bezieht sich auf einen Infanteristen, welcher mit einer eiternden Schußwunde des Fußes gepflegt wurde; nach einer Periode mäßigen Fiebers war er schon fieberlos, als ganz unerwartet ein hohes Fieber eintrat mit dem üblichen, rapiden Krankheitsverlauf. Bei der am 5. August gemachten Sektion fanden sich größere Leber- und kleinere Lungenabszesse; in dem uns zugesandten hellgelben, geruchlosen Eiter des Leberabszesses fanden wir die charakteristischen, feinen Bacillen, mit ausgesprochener Polfärbung. Die Aërobenkulturen blieben steril; in hohen Blutserum-Agarröhren sieht man nach 48 Stunden eine typische anaërobe Kultur (Fig. 5), welche 1,5–2,4 cm unter der Agarfläche beginnt und auch in sonstigen Eigenschaften der erstgenannten Kultur ähnlich ist; eine Eigenbewegung ist nicht zu bemerken. Bei Zimmertemperatur ist keine Entwicklung wahrnehmbar, ebenso wenig konnten wir den Bacillus in einfachem Agar oder in Traubenzuckeragar kultivieren, wenn kein Blutserum dazugemischt war. Diese Kultur ließ sich auch in mehreren Generationen weiterzüchten, dann ging sie ein. Aus diesen beiden Fällen stellte sich heraus, daß der Bacillus streng anaërobe Eigenschaften besitzt und bloß in Eiweiß enthaltenden Nährmedien kultivierbar ist. Auf Grund dieser Erfahrungen nahm ich zu der obenerwähnten Sektion, welche ich am 17. Sept. selbst machte, frisch bereitete, hochgefüllte Blutserum-Agarröhren mit und impfte sie mit dem aseptisch eröffneten

Leberabszeßinhalte und dem Milzsaft. Aus all diesen Impfungen gingen in 36 Stunden anaërobe Kulturen hervor, 1—1½ cm unter der Impf-
fläche beginnend, dagegen blieben alle aëroben Kulturen völlig steril.
Diese Kultur konnte ich bis zum heutigen Tage weiterimpfen; sie be-
hielt ihre streng anaëroben Eigenschaften und ließ sich nur in Blut-
serumagar weiterzüchten, dagegen in einfachem Agar oder in Trauben-
zuckeragar nicht. Gasbildung ist in diesen Kulturen sehr mäßig, den
meisten fehlt sie vollständig. In der Kultur fanden sich gramnegative,
feine Bacillen, sehr oft mit Polfärbung; im ganzen aber waren die
Bacillen etwas größer als im Leberabszeß, sehr oft bedeutend ge-
schwollen.

Fig. 5.



Fig. 6.

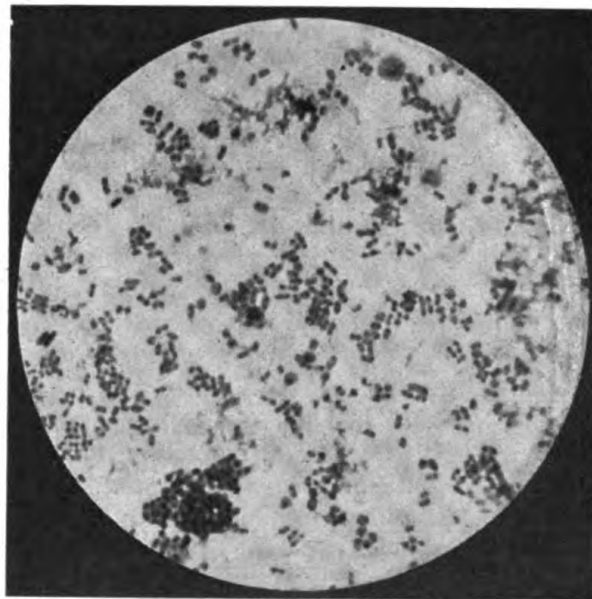


Fig. 5. Stichkultur in Blutserumagar, Fall vom 5. Aug.

Fig. 6. Bacillen mit Polfärbung aus einer Plattenkultur, Rand eines Klatschpräparates. Starke Vergrößerung.

Mit diesem Kulturstamm glückte es mir das erste Mal, eine Platten-
kultur zu erreichen. Es wurden Blutserumagarschalen gegossen und
ihre Oberfläche mit einer verdünnten Reinkultur geimpft und aus der
Schale das Oxygen nach der Methode von Lentz durch Pyrogallussäure-
Kalilauge absorbiert. Nach 2—2½ Tagen entwickelten sich auf der
Agaroberfläche feine Kulturen von ½—1 mm Durchmesser. Sie waren
tropfenartig durchscheinend, leicht hervorgewölbt, die Ränder unter dem
Mikroskop flach verdünnt, nicht scharf abgesetzt. In den folgenden
Tagen wurden die Kolonien größer, ohne miteinander zusammen-
zufießen. Aërobe Platten aus demselben Impfmateriel auf dem näm-
lichen Blutserumagar blieben völlig steril. Untersuchte ich von den
anaërob bereiteten Plattenkulturen ein gefärbtes Deckglaspräparat unter
dem Mikroskop, so fand ich überraschenderweise meistens sehr große,
runde Gebilde von 2—3 μ Durchmesser, so daß man sie eher für Blastomyceten halten konnte. Ihre Färbung war derartig schwach, als hätte

man es gar nicht mit Mikroorganismen zu tun; dazwischen waren nur hier und da kleine Bacillen mit Polfärbung. Dieses Rätsel löste sich bald, als ich die Plattenkulturen selbst mit einem Deckglas bedeckt unmittelbar mikroskopisch untersuchte. Da sieht man, daß die Randpartieen der Plattenkultur durch sehr feine Bacillen gebildet werden, während dieselben Bacillen gegen das Innere der Kultur rasch anschwellen und so in die genannten großen Gebilde übergehen; somit stellen die letzteren Involutionsformen dar. Interessant war der zähe Zusammenhang der Mikroben in diesen Plattenkulturen; man konnte sie nur mit Mühe mechanisch zerreiben. Dagegen war es sehr leicht möglich, durch einen ganz leisen Druck auf das Deckglas ein Klatschpräparat zu bekommen. Da sieht man am Rande die feinen Bacillen mit sehr deutlicher Polfärbung (Fig. 6), gegen die Mitte der Kultur werden die Bacillen sehr plump und dick, fast rundlich, die Polfärbung geht in eine ringförmige Färbung über, endlich färbt sich das sehr angeschwollene, rundliche Gebilde im ganzen nur sehr blaß. Diese Plattenkulturen habe ich mehrere Mal angelegt; sie zeigten immer die nämlichen Eigenschaften.

Eine Plattenkultur glückte mir auch in dem letzten untersuchten Fall. Es kam nämlich am 25. Dez. 1915 wieder eine typische, tödliche Erkrankung in Balassagyarmat vor; der Kranke hatte eine eiternde Schußwunde des Handgelenks, der Verlauf der Krankheit war ganz akut, mit hohem Fieber, Tod nach 2 Wochen. Bei der Sektion fanden sich mehrere Leberabszesse mit geruchlosem, hellgelbem Eiter. Im Eiter fanden sich bloß kleine, gramnegative Bacillen, sehr oft mit Polfärbung. Von diesem Material wurde ein Tropfen auf der Oberfläche von Ascitesagarplatten zerrieben und nach der Lentzschen Methode das Oxygen absorbiert. Am 3. Tage sieht man ganz feine, tropfenartige Kulturen auf der Platte, während die aëroben Platten keine Kulturen zeigten. Die Kulturen hatten alle wesentlichen Merkmale des vorher besprochenen Falles: am Rande sehr feine Bacillen, die gegen die Mitte der Kultur in äußerst große, rundliche Involutionsformen übergehen. Auch die eigentümliche, zähe Konsistenz und die Leichtigkeit, die ganze Kultur als Klatschpräparat von der Unterlage aufheben zu können, wiederholt sich wieder. An diesen Klatschpräparaten sieht man am Rande stellenweise nur Bacillen mit Polfärbung, andere zeigen eine kolbenartige Anschwellung, überhaupt ist die Färbung auch bei frischen Kulturen ziemlich schwach. An manchen Stellen sieht man auch kürzere oder längere Fäden, die sich umbiegen; ein Teil dieser Fäden zeigt eine Gliederung von einzelnen Bacillen, während andere Fäden nicht gegliedert sind. In den folgenden Tagen wurden die anaërob gehaltenen Kulturen größer, ohne Sporenbildung zu zeigen. Die Involutionsformen nehmen mit der Zeit stark zu; sie sind aber auch in ganz jungen Plattenkulturen schon sichtbar.

Herr Prof. Anjeszky, welcher die Güte hatte, meine Kultur nachzuprüfen, stellte fest, daß auf schief erstarrtem Blutserumagar die Bakterien gut gedeihen, wenn das Oxygen durch Pyrogallusmethoden absorbiert wird. In dieser Kultur findet man bloß sehr kleine Bacillen mit Polfärbung, während die StICKkulturen, in hohem Blutserumagar dargestellt, meist lange, aufgequollene Bacillen enthalten, welche eine sehr blasse, ungleichmäßige Färbung zeigen. Aus diesen langen Bacillen der StICKkultur entwickeln sich von neuem die influenzaähnlichen, kleinen Bacillen mit Polfärbung, wenn sie wieder auf schiefe Blutagar kultu-

viert werden. Dieselben kleinen Formen sieht man in den subkutanen Abszessen, welche bei Kaninchen durch Injektion von Stichkulturen hervorgerufen werden.

Bei der Plattenmethode entwickelten sich außer den kompakten, umschriebenen Kulturen dieser gramnegativen, bipolar sich färbenden, kleinen Bacillen auch andere größere Bacillen, welche grampositiv waren, sich gleichmäßig färbten und nahe an ihren Enden ovale Sporen zeigten. Diese sporentragenden Bacillen bildeten keine wohlbegrenzten Kolonien, sondern krochen überall hin und verbreiteten sich bald über den größten Teil der Platte. In Stichkultur sind sie weniger streng anaërob; die Entwicklung fängt 1 mm unter der Fläche an und ist schon in 16 Stunden bemerkbar; sie sind auch weniger wählerisch, indem sie auch in gewöhnlichem Traubenzuckeragar ohne Blutserumzusatz gedeihen. Da in dem Abszesse der Lebereiterungen grampositive Bacillen meist fehlten, oder in sehr geringer Zahl bemerkbar waren, verglichen mit der riesigen Zahl der gramnegativen Bacillen, so kann ich ihnen keine Rolle in der Genese dieser Erkrankung zuschreiben; die histologischen Schnitte der Leberabszesse zeigten auch nichts von grampositiven Bacillen. Da wir auf Leichenmaterial angewiesen waren, so ist es möglich, daß es sich hier um eine agonale Einwanderung von Darmbacillen handelt. Das gegenseitige Verhältnis dieser 2 Bacillentypen ist jedoch nicht völlig geklärt. In der Milz des von mir seziierten Falles waren ganze Haufen von dicken, langen, fadenförmigen Bacillen, während die Leberabszesse nur die kleinen Bacillen enthielten. In einem Falle konnte ich aus dem Lebereiter anaërobe Mikroben züchten, welche lange, gewundene Fäden bildeten mit echter Verzweigung; der Abszeßinhalt, aus dem die Kultur hervorging, enthielt im Strichpräparat die nämlichen kleinen Bacillen, wie die übrigen Fälle.

Auffallend war es, daß in 2 Fällen, die sonst typisch verlaufen waren und im Leberabszeß die wohlbekannten, bipolar sich färbenden Bacillen enthielten, jeder Versuch einer Kultur, auch in solchen Nährmedien erfolglos war, die sich sonst zur Kultivierung geeignet erwiesen. Vielleicht ist das rasche Absterben der Bacillen daran schuld; es ist auch möglich, daß der lange Zeitraum vom Tode bis zum Kulturversuch die Lebensfähigkeit der Bacillen ungünstig beeinflusste. Manchmal vergingen 4—5 Tage nach der Sektion, bis die Postsendung in unsere Hände gelangt war. Es ist bekannt, daß manche Anaëroben sich durch große Empfindlichkeit gegen Sauerstoff auszeichnen, besonders wenn sie keine Sporen bilden.

V. Tierversuche.

Die Tierpathogenität der Bakterien konnte schon vor der Züchtung derselben festgestellt werden. Wie schon früher erwähnt, konnte ich durch Injektion des Leberabszeßinhaltes in die Ohrvene bei einem Kaninchen Leberabszesse hervorrufen; von diesen Kaninchenabszessen wurden weitere Impfungen in die Ohrvene und unter die Haut gemacht. Die intravenös infizierten Tiere starben nach 10—30 Tagen; einige hatten Leberabszesse, die meisten aber Knochenmarkabszesse und intermuskuläre Phlegmonen, welche die typischen Bacillen enthielten. Erst in der 4. Serie der Versuche hat der Eiter seine Tierpathogenität eingebüßt, indem die Tiere länger am Leben blieben oder gar nicht gestorben sind. Subkutane Impfungen rufen große Abszesse hervor, die

sich langsam, aber progressiv entwickelten und die Tiere in 4—6 Wochen töteten; metastatische Abszesse kamen dabei nicht vor.

Diese Erfahrungen bewogen mich, auch in späteren Fällen, wo ich schon eine Reinkultur erreichen konnte, auch mit dem menschlichen Eiter selbst Tierversuche zu machen. In 4 weiteren Fällen von menschlichen Erkrankungen war die Tierpathogenität auf diese Weise erwiesen; dabei entwickelten sich bei subkutan geimpften Kaninchen progressiv sich vergrößernde Abszesse, bei den intravenös geimpften einmal Leberabszesse, in den übrigen Fällen Knochenmarkeiterungen und intermuskuläre, metastatische Abszesse. Ein Kaninchen, aus dem Lebereiter des am 25. Dez. gestorbenen Soldaten intravenös geimpft, bekam plötzlich am 20. Tage nach der Impfung eine totale Paraplegie der Hinterbeine und starb am nächsten Tage. Die Sektion konstatierte eine eiterige Spondylitis am 4. Dorsalwirbelkörper; die Eiterung drang gegen den Wirbelkanal hervor, das Rückenmark komprimierend; im Eiter die typischen kleinen, bipolar sich färbenden Bacillen mit Involutionsformen.

Als die Reinkultur der Bacillen gelang, versuchten wir, mit derselben Kaninchen zu infizieren. 3 Kulturstämme von 3 verschiedenen menschlichen Fällen erwiesen sich, subkutan geimpft, noch in der 3. Generation als pathogen; am 3. Tage fühlt man an der Impfstelle eine kleine Schwellung, welche später in einen großen Abszeß übergeht und die Tiere tötet. Intravenöse Impfungen der Kulturen hatten keine Eiterung verursacht: entweder starb das Tier bald, ohne lokale Entzündungen zu bekommen, oder es überstand die Impfung und genas. Herr Prof. Aujeszký konnte mit der Kultur auch bei Meerschweinchen Abszesse hervorrufen. Es sei noch erwähnt, daß die subkutanen Abszesse eine sehr dickflüssige, fadenziehende, geruchlose Masse enthielten.

VI. Epikritische Bemerkungen über die Pathogenese.

Ueberblickt man die Ergebnisse der histologischen und bakteriologischen Untersuchungen, so bekommt man den Eindruck, daß diese Erkrankungen, welche klinisch, einige Schwankungen des Verlaufsbildes abgerechnet, eine strenge Zusammengehörigkeit bekunden, auch ätiologisch gleichwertig sind. In den Leberabszessen, welche die beständigen und prägnantesten Veränderungen bildeten, konnte man ausnahmslos und in überaus großer Zahl einen sehr kleinen Bacillus finden, welcher nach Gram nicht färbbar ist und sich auch sonst nur schwer färben läßt, sehr oft nur an seinen beiden Enden. Ein ebenso beständiger Befund war, daß in diesen Leberabszessen, gleichwie in den dazukommenden Lungenabszessen, die häufigsten Ursachen der Pyämieen, d. i. die pyogenen Kokken, fehlten. In 4 Fällen konnten wir den Bacillus auch kultivieren, und zwar 3mal unmittelbar aus dem Eiter des Leberabszesses und 1mal nach Uebertragung auf Kaninchen. Der gezüchtete Bacillus hat keine Eigenbewegung, bildet keine Sporen, wächst nur streng anaërob bei Körpertemperatur, und zwar nur in Nährmedien, welche tierisches Eiweiß enthalten; in traubenzuckerhaltigem Blutagar wird nur sehr wenig Gas gebildet.

Soweit ich weiß, hat man bisher in Leberabszessen kein Bakterium mit solchen Eigenschaften gefunden. In der Bakteriologie von Dopter und Sacquépée wird zwar behauptet, daß Veillon und Zuber den Bacillus fragilis, welcher mit unserem Bacillus manche gemeinsame Eigenschaften hat, auch in Leberabszessen gefunden haben. In der

Originalmitteilung von Veillon und Zuber, welche im Jahre 1898 in den Arch. de méd. expér. et pathol. erschien, ist aber nur von einem Vorkommen des *Bacillus fragilis* bei Appendicitiden die Rede. In der Literatur sind noch einige ähnliche Bakterien veröffentlicht, so z. B. in den Publikationen von Russ¹⁾ und Ghon²⁾. Russ fand seinen *Bacillus* in einem periproktitischen Abszeß, während der Ghonsche *Bacillus* aus 2 Fällen von otogener Meningitis kultiviert wurde. Auch diese Bakterien zeigen so kleine Dimensionen, wie der Influenzabacillus, haben weder Eigenbewegung noch Sporenbildung, sind gramnegativ und lassen sich nur wie Anaëroben züchten. Der *Bacillus Ghons* war dem unsrigen auch insofern ähnlich, daß die durch ihn produzierte Eiterung geruchlos war und die Bakterien in den Kulturen zu rundlichen Involutionsformen anschwellen. An Fig. 6, Taf. I und Fig. 18, Taf. II, welche der Arbeit Ghons beigegeben sind, sieht man solche rundliche Involutionsformen, welche den Degenerationsformen unseres *Bacillus* völlig gleichen.

Herr Prof. Hutyra machte mich auf die Aehnlichkeit aufmerksam, welche unser *Bacillus* mit dem *Bacillus* des Abortus infectiosus zeigt; der letztere gedeiht auch schwer an gewöhnlicher Luft und bevorzugt Nährböden mit Serumzusatz; die Kleinheit, Unbeweglichkeit und Gramnegativität ist auch beiden gemeinsam. Doch ist der *Bacillus* des Abortus infectiosus weniger streng anaërob und zeigt nach der Beschreibung keine so deutliche Polfärbung, wie unser Bakterium.

Für die krankheitserregende Bedeutung des von uns gezüchteten *Bacillus* spricht sein beständiges Vorkommen in allen untersuchten Fällen der Lebereiterung und seine bedeutende Vermehrung an den Rändern der Abszesse; die große Menge der Bacillen erklärt sogleich den ungemein raschen Verlauf der Infektion. Die pathogene Wirkung desselben erhellt auch daraus, daß man auch mit den späteren Generationen der Kultur bei Kaninchen Abszesse hervorrufen konnte. Die histologische Untersuchung stellte fest, daß dieses Bakterium in den Geweben besonders eine Nekrose erregt, während die eiterige Verschmelzung nur sekundär ist und keinen sehr hohen Grad erreicht, somit steht die nekrotisierende Wirkung gegen die proteolytische stark in dem Vordergrund, während in den durch Kokken bedingten Abszessen das Verhältnis der Nekrose und der eiterigen Verschmelzung ein umgekehrtes ist. Diese durch anaërobe Mikroben verursachten Infektionen bieten noch dadurch ein besonderes Interesse, daß der Eiter der Leberabszesse beinahe völlig geruchlos war; es fehlte jener Fäulnisprodukte verratende Geruch, welcher sonst den durch Anaëroben bedingten Eiterungen eigen ist.

Außer der Erforschung der Krankheitsursache erregte noch eine weitere Frage bei den rasch nacheinander folgenden Infektionen ein großes Interesse, nämlich auf welche Weise diese Infektionen zustande gekommen sind. Da von Leberabszessen die Rede war, so wurde die Aufmerksamkeit auf die Vena portae gelenkt, denn es ist bekannt, daß (die Gallengangsinfektionen, für welche hier kein Anhaltspunkt war, nicht beachtet) die Leberabszesse meist auf dem Wege der Vena portae entstehen und sich zu Appendicitis, Dysenterie und Proctitis gesellen.

1) Russ, V., Ueber ein influenzaähnliches anaërobes Stäbchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. p. 357.)

2) Ghon, Mucha u. Müller, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 41. p. 4 u. 402.)

Trotzdem war es uns nicht möglich, die Vena portae als den Weg der Infektion anzunehmen; einige Umstände sprachen sogar direkt gegen diesen Infektionsmodus. In keinem Fall war weder klinisch, noch pathologisch-anatomisch ein Zeichen zu finden, welches eine Infektion vom Magen oder vom Darm aus wahrscheinlich gemacht hätte. Die Sektionen, die durch die Aerzte des Spitals, durch meinen Assistenten W. Boér und durch mich gemacht wurden, waren in dieser Hinsicht ganz gleichlautend; ich selbst untersuchte in meinem Falle die Wurzeln und Zweige der Vena portae, ohne etwas Krankhaftes finden zu können; Dysenterie, Typhus, Appendicitis waren in diesen Fällen überhaupt ganz auszuschließen. (Im Falle Boérs wurde auch die Galle auf Typhusbacillen kulturell untersucht, erwies sich aber steril.)

Hämatogene Leberabszesse können aber auch so entstehen, daß die Arteria hepatica die infizierenden Keime in die Leber hineinschleppt; die Eindringungspforten, welche in solchen Fällen eine Rolle spielen könnten (Tonsillen, Paukenhöhlen, Prostata), zeigten nichts Verdächtiges; die klinische Beobachtung hat auch nichts festgestellt, was für eine Infektion von diesen Organen her sprechen würde. Die Tatsache, daß es sich um anaërobe Bakterien handelt, macht die Infektion von den intakten Schleimhäuten recht unwahrscheinlich, denn bei den metastatischen Eiterungen anderer anaërober Bakterien war an der Eintrittsstelle oder an seiner unmittelbaren Umgebung fast immer eine stärkere Entzündung vorhanden. So kann man z. B. bei einem durch *Bacillus fusiformis* verursachten Leberabszeß in der Appendix oder bei einem Gehirnabszeß in den Bronchien die primäre Entzündung finden, welche meist mit Ektasie und Sekretstauung verbunden ist. An den mit Schleimhaut bekleideten Hohlräumen wird also die Vermehrung der pathogenen Anaëroben und die Eindringung derselben in die Blutbahn meist durch besondere, lokale Veränderungen befördert, während solche in unseren Fällen nicht bemerkbar waren.

Unsere Aufmerksamkeit wird also auch durch das Fehlen anderer möglicher Ursachen auf die Schußwunden gelenkt. Außer diesen negativen Argumenten finden wir auch positive Beweisgründe, wenn man die übrigen Umstände der Erkrankungen betrachtet. Ein jedes Opfer dieser rätselhaften Krankheit hatte ohne Ausnahme eine Schußwunde; in den meisten Fällen waren sogar auch die Knochen verletzt und die Wunden heilten in keinem Falle ohne Eiterung. Es ist bekannt, daß die Schußverletzungen, besonders wenn sie mit starker Quetschung und Knochenzersplitterung verbunden sind, für die Vermehrung von anaëroben Bakterien sehr geeignet sind, wie es die zahlreichen Fälle von Tetanus und Gangraena emphysematosa in diesem Weltkriege beweisen. Es schien zwar jener Umstand einigermaßen gegen die Wundinfektion zu sprechen, daß in der Umgebung der Schußwunde am Anfang der schweren Infektion oder in den ersten Stadien derselben sich keine heftigere Reaktion zeigte. In dieser Hinsicht bot die durch mich ausgeführte Sektion einige Erklärung, indem in der Tiefe der Schußwunde, welche äußerlich die Zeichen einer Heilung aufwies, eine eiterige Osteomyelitis sich vorfand, welche in dem Knochenmark weit dahinkroch, ohne daß die oberflächlichen Weichteile sich an der Entzündung beteiligt hätten. In diesem Falle bemerkten wir an den Deckglaspräparaten, ebenso wie an mikroskopischen Schnitten der Knochenmarkeiterung, außer den Eiterkokken auch eine Menge gerade so feiner, blaßgefärbter Bacillen, wie sie in der Leber vorkommen, so daß wenigstens für diesen Fall die In-

fektion von der Schußwunde aus, wenn auch nicht zweifellos, so doch wenigstens wahrscheinlich ist. Das ist freilich nur eine einzige Beobachtung, deren Ergebnis sich für die übrigen Fälle nur so verallgemeinern lassen, daß, solange Gegenbeweise nicht vorhanden sind, auch für die anderen Fälle eine Infektion von der Schußwunde plausibler erscheint, als die Annahme der Eindringung der Bakterien von den intakten Schleimhäuten aus, d. h. ohne daß an dieser Schleimhautstelle lokale Veränderungen vorkommen würden. Die Kultur des anaëroben *Bacillus* gelang aus der Knocheneiterung in keinem der untersuchten Fälle, was vielleicht in der großen Menge anderer, fakultativ-anaërober Bakterien (Kokken, *Coli*-artige Bacillen) eine Erklärung findet, indem diese letzteren die empfindlichen Anaëroben überwucherten.

Akzeptieren wir die Wahrscheinlichkeitsannahme, daß die Bakterien durch die Schußwunden in das Blut gelangten, so wird durch die anaërobe Natur der gezüchteten Bakterien erklärt, daß von den oberflächlich Verwundeten niemand erkrankte; bei solchen Kranken fand nämlich das anaërobe Bakterium keinen rechten Angriffspunkt. Läßt man noch die metastasische Eiterung anderer anaëroben Bakterien als Analogie gelten, so scheint es plausibel, daß die Vermehrung der anaëroben Bakterien in der Schußwunde, ebenso wie das Eindringen derselben in das Blut, durch solche Umstände befördert wurde, welche überhaupt für die Anaëroben günstig sind. Ein solches begünstigendes Moment wäre die Sekretsammlung durch Verstopfung des eiternden Wundkanales; es ist bekannt, daß die schwersten Fälle von Appendicitis und Otitis dadurch entstehen, daß die Oeffnung des Appendix oder die Kommunikation der Paukenhöhle mit der Tube verschlossen wird und dadurch die Bedingungen für Anaërobiose gegeben werden. Das ist freilich bloß der eine, am meisten bemerkbare Faktor, welcher die anaëroben Bakterien befähigt, sich zu vermehren und ihre pathogene Wirkung zu entfalten, denn es ist bekannt, daß zu dieser Vermehrung der Anaëroben auch die Symbiose von anderen Bakterienarten, besonders von Aëroben (in diesem Falle von Kokken) beitragen kann, indem die letzteren das Oxygen den Anaëroben wegnehmen.

Nach dieser Besprechung der Eindringungspforten könnte man die Frage stellen, auf welche Weise die Bakterien in die Schußwunden hineingelangten. Die Beantwortung dieser Frage wäre hinsichtlich der Prophylaxe von sehr großer Wichtigkeit, doch ist in diesen Fällen die Nachforschung der Mikroben außerhalb des menschlichen Körpers gerade so schwer, wie sonst überhaupt. Ich konnte diesbezüglich keine Untersuchungen machen, und bin bei der Erörterung dieses Themas auf Hypothesen angewiesen. Soweit ich weiß, sind derartige Erkrankungen in sonstigen Städten von Ungarn weder bei Verwundeten, noch bei Zivilpersonen beobachtet worden, sogar der größte Teil der Balassagyarmater Fälle kam in 2 Krankensälen des Roten Kreuz-Spitals vor. Dies zeugt dafür, daß die Bakterien, welche diese Infektion verursachten, viele Monate lang an diese Lokalitäten des Krankenhauses gebunden waren. Es wird nämlich durch nichts bewiesen, daß die neu Erkrankten dieses Bakterium immer von außen in das Spital mit hineingebracht hätten. Freilich ist es sehr schwer, zu entscheiden, ob anläßlich der ersten Erkrankung die Bakterien von außen eingeschleppt waren, oder ob dieselben schon vor längerer Zeit als Saprophyten in den Spitallokalitäten hausten und ihre pathogenen Eigenschaften nur dadurch be-

werkstelligen konnten, daß in diesen Lokalitäten Soldaten mit Schußwunden untergebracht wurden.

Auf den ersten Blick scheint die Geschichte dieser kleinen Endemie die letztgenannte Entstehungsweise plausibel zu zeigen. Das Rote Kreuz-Spital, wo die ersten Erkrankungen aufgetreten sind, wurde zum Teil aus einigen Lokalitäten des alten Komitatssitzungshauses adaptiert und scheint mit seinen dicken Mauern eine günstige Stätte für anaerobe Bakterien zu bieten. Diese Erklärung ist aber nicht die einzig mögliche. Bedenken wir, daß Ghon und Russ ihre Bakterien, welche den unserigen so ähnlich waren, aus otogenen Meningitiden, resp. von einem periproktitischen Abszeß züchteten, erwägen wir noch, daß der *Bacillus fragilis* Veillon in Appendicitiden der häufigste Befund sein soll, so wird der Verdacht erweckt, daß auch unser anaerobes Bakterium vielleicht einen bisher nicht bekannten, beständigen Bewohner des menschlichen Darmkanals bildet, welcher auf irgendeine Weise in zerquetschte, tiefe Wunden kam und hier pathogene Eigenschaften erwarb. Diese Möglichkeit ist deshalb zu erwägen, weil das Bakterium keine Sporen bildet und erst bei Körpertemperatur sich vermehrt; diese Merkmale sprechen also nicht dafür, daß der *Bacillus* unlängst noch sein saprophytisches Dasein fristete.

Wie immer auch die erste Infektion entstanden ist, muß man voraussetzen, daß diese Bakterienart sich mit großer Hartnäckigkeit in den Krankensälen gehalten hat, denn beinahe 1 Jahr lang sind in fast jedem Monat 1—2 Erkrankungen vorgekommen; von diesen Fällen enthielten die von uns untersuchten Abszesse die gleichen Bacillen, mit denselben morphologischen und biologischen Eigenschaften. Wie diese neueren Infektionen zustande kamen, ist noch ziemlich rätselhaft; es ist möglich, daß die Bakterien auch in dem Wundsekret von solchen Kranken vorhanden waren, die keine charakteristischen Krankheitssymptome zeigten und diese „Bacillenträger“ haben die neueren Infektionen vermittelt. Mir wenigstens scheint es weniger annehmbar, daß eine jede neuere Erkrankung durch staubartige Partikelchen der wenig geeigneten Spitallokalitäten hervorgerufen wurde, und ich halte es für viel plausibler, daß die neueren Infektionen durch das Wundsekret entstanden sind. Diese Ansicht wird auch dadurch nicht erschüttert, daß die strengste Asepsis der angewendeten Instrumente und Verbandstoffe das Auftreten neuerer Infektionen nicht aufhalten konnte. Vielleicht hätte man einige Aufklärung gewinnen können, wenn die Bakterienflora der Verwundeten systematisch untersucht worden wäre, denn so lange die Infektion von der Wunde aus nicht bewiesen ist, kann das Eindringen der Bakterien vom Darne aus nicht unbedingt ausgeschlossen werden.

Gewiß ist es bemerkenswert, daß in diesen Fällen eine anaerobe Bakterienart so zahlreiche Erkrankungen verursachte, somit ein gewisses Maß der Kontagiosität besaß. Die durch Anaeroben bedingten Erkrankungen sind, mit wenigen Ausnahmen, sporadisch, während man hier von einer kleinen Endemie sprechen dürfte. Freilich ist die Kontagiosität auch in dieser Endemie nicht sehr stark, denn in einem Monat gab es höchstens 2—3 neue Erkrankungen; die 22 Fälle dieser Infektion kamen auf 500 Verwundete dieses Spitals.

Es erübrigt noch, den Weg der Bakterien in dem erkrankten Organismus zu betrachten. Alle Zeichen sprechen dafür, daß der *Bacillus*, einmal in das Blut gelangt, sich zuerst in der Leber eingenistet und

vermehrt hat. (Eine vorherige Vermehrung derselben im Blute konnte aus den eingesendeten Blutproben weder durch Strichpräparate, noch durch Züchtung bewiesen werden.) Auch die klinischen Beobachtungen zeigten eine sehr frühe Erkrankung der Leber; aus dem Untersuchungsmaterial der Sektionen erfuhren wir ebenfalls, daß die Abszesse in der Leber bedeutend zahlreicher und größer sind, als diejenigen der Lunge. Einigemal hatten die Leberabszesse schon einen Granulationshof, während die Lungenabszesse in denselben Fällen viel jünger aussahen. In einigen Fällen fand man bloß Leberabszesse, während die übrigen Organe, auch die Lungen, frei von Abszessen waren. Hier stoßen wir auf eine schwierige Frage: warum die Leber zuerst erkrankt, obzwar, eine Infektion von der Wunde aus vorausgesetzt, die metastatischen Abszesse eher in der Lunge erwartet werden könnten. Es ist eine Tatsache, daß in den durch pyogene Kokken bedingten Pyämieen, welche als Wundinfektionen auftreten, die Lungenabszesse sehr häufig sind, während Leberabszesse nur ausnahmsweise vorkommen; dieses Faktum wird durch unsere eigenen und auch durch von mehreren Seiten her eingeholte Erfahrungen bestätigt. Bei Erwägung dieser Verhältnisse ist aber der Umstand zu beachten, daß bei den durch Kokken verursachten Wundinfektionen die eiterigen Thrombophlebitiden in der Umgebung der Wunde ziemlich häufig sind; die Entwicklung des metastatischen Abszesses gerade in der Lunge wird somit dadurch erklärt, daß mit den Kokken auch erweichte Thrombenteilchen mitgeschleppt werden und diese schon in den kleineren Arterien der Lunge aufgehalten werden. Solche Thrombophlebitiden sind in den von uns untersuchten Erkrankungen von Balassagyarmat nicht vorgekommen, und so war es möglich, daß die Bakterien in den Blutkreis nur einzeln oder wenigstens in so kleinen Häufchen hineingelangten, daß sie in den weiten Kapillaren der Lungen nicht aufgehalten wurden. So konnte man es erklären, daß die Bacillen, von der Wunde in die Blutbahn eindringend, die Kapillaren der Lunge passierten und dann in den großen Blutkreis, bzw. auch in die Zweige der Leberarterien hineingekommen sind, ohne daß die Lungen vorher erkrankt wären.

Man könnte sich aber noch eine andere Entstehungsweise vorstellen, welche zugleich eine Erklärung geben würde, warum die Leber so oft und ausschließlich erkrankt, nämlich wenn man voraussetzt, daß die in das Blut gelangten Bakterien durch eine Umkehr der Blutwelle vom rechten Vorhof in die Lebervenen und in die Wurzeln derselben ganz bis in die Leberläppchen hineingeschleppt wurden. Dieser Entstehungsmodus ist schon lange bekannt; Risel¹⁾ teilt auch einen diesbezüglichen Fall mit, der von einer ausführlichen histologischen Beschreibung begleitet ist. Dennoch scheint es etwas gewagt, einen jeden Leberabszeß unserer Fälle durch eine retrograde Embolie zu erklären. Es gibt sogar eine klinische Beobachtung, welche diese Erklärung geradezu unwahrscheinlich macht. In einem Falle konnte man schon 4 Tage nach dem ersten Schüttelfrost eine Schwellung des rechten Metatarsophalangealgelenkes bemerken; diese Schwellung ging später in Vereiterung über. Diese metastatische Gelenkentzündung entstand gewiß durch die Arterien, denn eine retrograde Embolie bis in die Fußspitzen wäre etwas

1) Risel, W., Ueber die erste Entstehung der Leberabszesse durch retrograde Embolie. (Virch. Arch. Bd. 182. 1905. p. 258.)

Ungewohntes; nimmt man aber an, daß diese Gelenksentzündung auf arteriellem Wege entstanden ist, so kann diese Entstehungsweise auch für die Leberabszesse angenommen werden, umso mehr, als solche Momente, welche eine Umkehr der Blutwelle auslösen könnten (heftiger Husten und dergleichen), bei den Kranken nicht beobachtet wurden. Die Tierversuche sprechen auch für eine Möglichkeit der Infektion durch arterielles Blut, indem nach intravenöser Impfung des Eiters zum Teil Leberabszesse, zum Teil Knochenmarksabszesse entstanden sind, während die Lungen frei blieben.

Wenn man aber voraussetzt, daß die Verschleppung der Bakterien in die Leber durch die Arteria hepatica stattfand, so ergibt sich wieder die Frage, warum die Abszesse hauptsächlich oder ausschließlich in der Leber aufgetreten sind, obwohl sie durch das arterielle System in jedes Organ hineingelangen konnten. Es ist möglich, daß die Leber entweder durch ihr überwältigend venöses, d. i. oxygenarmes Blut, oder durch ihre besonderen chemischen Bestandteile die günstigen Voraussetzungen für das Gedeihen gerade dieses Bakteriums erfüllt. Sieht man das häufige Auftreten der durch den *Bacillus fusiformis* verursachten Gehirnabszesse bei Bronchiektasien, während in den übrigen Organen sich keine Abszesse finden, so ist man genötigt, diese Organdispositionen als Tatsache zu akzeptieren; eine Erklärung derselben steht freilich noch aus.

Wie immer die Bakterien in die Leber gekommen sind, verbreiteten sie sich dort in sehr charakteristischer Weise. Die histologische Untersuchung stellte fest, daß die Bakterien sich zumeist in den Kapillaren der intermediären Zone eines Leberläppchens ansiedelten und von hier radiär gegen den Rand des Läppchens vordrangen, so daß ein kleinerer Abszeß, aus dem der größere konfluiert, zumeist einem Leberläppchen entspricht und sein Zentrum durch die nekrobiotischen zentralen Leberbalken gebildet wird, während an dem Rande des elementaren Abszesses die radiär gestellten Bakterienmassen der Acinusperipherie sichtbar sind. Die Venae sublobulares sind sehr oft durch Bakterienthromben ausgefüllt, während die Zweige der Pfortader frei sind; somit sieht man das Umgekehrte von dem, was bei den durch die Vena portae entstehenden Leberabszessen (z. B. Appendicitisabszessen) gewöhnlich geschieht. In den letzteren Fällen sind nämlich der Stamm und die Zweige der Vena portae sehr oft durch vereiternde Thromben obturiert; man sieht also das Bild einer eiterigen Pylephlebitis, während in unseren Fällen die Zeichen einer Pylephlebitis durchaus fehlten. Statt dessen konstatierten wir in diesen Fällen oft die septische Thrombose der Lebervenen und ihrer Wurzeln, eine Veränderung, welche sonst bei anderen Leberabszessen nur ausnahmsweise vorkommt.

Diese ausgedehnte Erkrankung der Lebervenen läßt auch die große Zahl und das regelmäßige Auftreten der Lungenherde erklären. Die letzteren sind, wie erwähnt, jünger als die Leberabszesse und an ihrem zentralen Teile erkennt man die Eigenschaften der erweichten, septischen Infarkte, während an ihren Rändern teils eine eiterige Demarkation, teils ein pneumonischer Hof sichtbar sind. Es scheint, daß die Bakterien auch in der Lunge die Fähigkeit hatten, von der Stelle der ersten Ansiedelung, wie von einem Zentrum aus, peripherisch nach jeder Richtung weiter zu wuchern; dadurch kann man es am besten erklären, daß die Lungenherde mehr rundlich sind und nicht die keilförmige Gestalt

der Infarkte haben. In die Lungenherde sind wahrscheinlich durch die Bronchien sekundär auch andere Bakterien, so auch Aëroben, hineingelangt.

Zu den Abszessen der Leber und Lungen hat sich meist die eiterige Entzündung des Bauchfells, resp. der Pleura hinzugesellt, welche aber, vielleicht infolge des raschen Verlaufes, nur selten eine größere Ausbreitung zeigte.

Dies wären die Ergebnisse unserer Beobachtungen über diese interessante Infektionskrankheit. Obzwar die Untersuchungen in vieler Hinsicht lückenhaft sind, geht aus ihnen doch so viel hervor, daß es sich um eine recht seltene Form der Pyämie handelt, welche der weiteren Forderung auch hinsichtlich der Prophylaxe und der kausalen Therapie wert ist. Dazu aber wäre es notwendig, die Krankheit an Ort und Stelle zu prüfen, denn auch unsere Studien wurden durch die Entfernung recht erschwert; dies war schuld daran, daß auch die bisherigen Feststellungen sich so langsam und schrittweise erzwingen ließen. Ich wäre sehr dankbar, wenn auch von anderen Seiten Fälle derartiger Erkrankungen, oder literarische Spuren von solchen Beobachtungen veröffentlicht würden; einstweilen bin ich in Unsicherheit, ob diese gehäuften Infektionen in ihrer Art einzig dastehen, oder ob sie anderswo schon vorgekommen und ätiologisch richtig erkannt waren. (G. C.)

Nachdruck verboten.

Ueber das Auftreten von Rotlauf- bzw. Murisepticus-Bacillen in zur Feststellung der Rotlaufkrankheit eingesandten Schweineorganen, sowie bei gesunden Schlachtschweinen. Zugleich ein weiterer Beitrag zur Präzipitogendiagnose des Rotlaufs¹).

[Aus der Tierhygienischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts zu Bromberg. (Leiter W. Pfeiler)].

Von **W. Pfeiler** und **E. Roepke**.

Die Rotlaufpräzipitinreaktion ist zuerst (1910) von Vaney (1) beobachtet worden. Er erhielt bei Schichtung von Filtraten aus Rotlaufkulturen über entsprechende Immunsera bei 37° deutliche Präzipitation, die ausblieb, wenn dieselben Filtrate mit Normalserum oder Filtrate aus anderen Bakterienarten mit Rotlaufserum zusammengebracht wurden. Ascoli (2) hat 2 Jahre später die Verwendung der Präzipitation für die Rotlaufdiagnose empfohlen. Die Methode ist im Anschluß an diese Veröffentlichung von verschiedenen Forschern geprüft und ihre Spezifität von den meisten Seiten anerkannt worden. Im Bromberger Institut ist die Reaktion vor mehreren Jahren gleichfalls einer Prüfung unterzogen

1) Ueber die gleiche Frage ist von uns bereits vor längerer Zeit berichtet worden, vgl. Pfeiler u. Roepke (19).

worden. Drescher (3) ist hier einer der ersten gewesen, durch dessen Versuche bewiesen worden ist, daß die Präzipitation für die praktische Diagnose des Rotlaufs unbrauchbar ist. Besonders seine Untersuchungen an faulem Material zeigten so wenig befriedigende Resultate, daß er die Ausführung der Reaktion mit Extrakten aus faulen Organen widerrät.

Gleich Drescher hat Iwicki (4) Versuche an frischen und faulen Schweineorganen angestellt. Auch er hat, vornehmlich mit verfaultem Material, die widersprechendsten Resultate erhalten und glaubt, diese Uebelstände darauf zurückführen zu müssen, daß das ihm von Ascoli zur Verfügung gestellte Serum nicht hochwertig oder spezifisch genug war.

Im Gegensatz zu den angeführten Autoren behauptet Raebiger (5), daß die Präzipitation bei seinen Versuchen stets spezifisch war.

Ebenso wie Raebiger hat sich Profé (6) über die Methode lobend geäußert.

Noch mehr als diese Autoren tritt Zagaja (7) für die Verwendung der Rotlaufpräzipitation ein. Er empfiehlt, namentlich wenn es sich um älteres Material handelt, die Reaktion anzuwenden.

In gleichem Sinne haben sich Silva (8), Gauss (9), Schulte (10), Hecht (11), Isabolinsky und Patzewitsch (12) sowie Declich (13) ausgesprochen.

Der Meinung Dreschers (3) und Iwickis (4) hat sich nur noch Seibold (14) auf Grund seiner umfangreichen Untersuchungen angeschlossen. Er sagt, daß, so lange wir nicht ein hochwertiges spezifisches Serum besitzen, wir für die Feststellung des Rotlaufs beim Schwein auf die bakteriologische Untersuchung angewiesen seien.

Angesichts dieser Widersprüche verdienen Mitteilungen, die A. Ascoli (15) in der neueren Zeit über die Spezifität der Rotlaufpräzipitinogenreaktion¹⁾ gemacht hat, besondere Beachtung. Nach seinen Beobachtungen kann nämlich die Spezifität des Präzipitationsverfahrens durch die verschiedensten Umstände ungünstig beeinflusst werden. Obwohl eintretende Fäulnis die präzipitinogenen Stoffe nicht zu schädigen scheint, tritt andererseits mit faulen Organen nicht-rotlaufkranker Tiere eine Ringbildung ein. Verfasser glaubt, diesen Umstand auf das Eindringen und die Vermehrung des *Bacillus murisepticus*, eines dem Rotlaufbacillus nahestehenden Bakteriums, zurückführen zu können. „Tatsächlich ist die Präzipitinreaktion bei Rotlauf eine Gruppenreaktion, und es tritt die Ringbildung bei Schichtung des Rotlaufpräzipitins mit *Murisepticus*-Filtraten, mit Extrakten mit *Murisepticus* verunreinigtem Material und an der Infektion mit *Murisepticus* verendeten Mäusen leicht ein. Es bedingt demnach das Eindringen und die Vermehrung der *Murisepticus*-Gruppe in faulenden Organen, aus welchen ja von Koch die Reinzüchtung des *Murisepticus* zuerst bewerkstelligt wurde, eine Gruppenreaktion, die die Spezifität der Probe bei Fäulnis derart gefährdet, dass ein positives Ergebnis an verfaultem Material mit Zurückhaltung beurteilt werden muß.“

1) Da es sich bei diagnostischen Rotlaufversuchen um den Nachweis des Präzipitinogens und nicht des Präzipitins handelt, dürfte diese Bezeichnung zweckmäßiger als der Ausdruck Präzipitinreaktion sein.

Im gewissen Gegensatz zu dieser Auffassung steht die in der gleichen Arbeit von Ascoli vertretene Meinung, der zufolge „nicht bei allen Fäulnisprozessen solche den Rotlaufferregern verwandte Keime vorkommen müssen, auch mit der Möglichkeit ihrer Maskierung durch gleichzeitige Bildung von Hemmungskörpern zu rechnen ist, so daß in der Mehrzahl der Fälle die Spezifität der Reaktion bei faulenden Organen nicht beeinträchtigt werden mag; immerhin muß jedoch diesem Umstande Rechnung getragen werden. Man kann dieser Fehlerquelle entgegenzusteuern versuchen, indem man die Verdünnung der Extrakte heranzieht oder, nach dem Vorgange von Hecht, die Probe mit bis zum Sechsfachen verdünntem Serum wiederholt.“

Die Nachprüfung dieser dem optimistischen Standpunkt Ascolis (15) entspringenden Anschauungen schien uns mit Rücksicht auf unsere widersprechenden bzw. die Brauchbarkeit des Verfahrens in Frage stellenden Erfahrungen durchaus notwendig¹⁾. Wir nahmen daher die durch Drescher (3) am Tierhygienischen Institut bereits 2 Jahre früher durchgeführten Versuche im Juni 1914 wieder auf und teilen die Ergebnisse derselben hier mit.

Wie seinerzeit wurden zunächst frische und dieselben Organe später in faulem Zustande untersucht. Geprüft wurden die Nieren von 56 Schweinen, die unter rotlaufverdächtigen Erscheinungen verendet und deren Organe zur Sicherung der Diagnose eingesandt worden waren. Wir wählten nur solche Fälle, bei denen mikroskopisch Rotlaufbacillen nicht nachgewiesen werden konnten, da der Präzipitation ja nur in diesen Fällen ein über die Ergebnisse der bakteriologischen Feststellungen hinausgehender diagnostischer Wert zukommen würde und kein Zweifel darüber besteht, daß bei Infektion von Organen mit reichlichen Mengen von Rotlaufbacillen und Verwendung geeigneter präzipitierender Sera die Reaktion positiv ausfällt. Das zur Verwendung gelangende Material wurde möglichst steril in Petri-Schalen aufgehoben.

Wir stellten uns zunächst Chloroformextrakte in der von Schütz und Pfeiler (17) angegebenen Weise her, daß ein Stück Niere mit weißem, sterilem Porzellansand in einem ebenfalls sterilen Mörser verrieben und hierauf für 2—3 Stunden mit Chloroform versetzt wurde. Dann wurde das Chloroform abgegossen und das Gefäß bis zur völligen Verdunstung des Chloroforms unbedeckt gelassen. Alsdann wurde der Rückstand mit entsprechenden Mengen einer 0,5 Proz. Karbol enthaltenden Kochsalzlösung übergossen und nach weiteren 2—4 Stunden filtriert bzw. zentrifugiert. Dabei wurde sorgfältig acht gegeben, daß der Extrakt völlig klar war.

Das für die Reaktion gebrauchte Rotlaufserum (vom Pferde) wurde uns von Herrn Prof. Dr. A. Ascoli-Mailand in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt, wofür wir auch an dieser Stelle bestens danken. Zur Kontrolle wurde das Serum eines gesunden Instituts-pferdes benutzt. Den eigentlichen Versuchen wurde eine Prüfung des

1) Wie wir, hat Schlote (16), im übrigen unabhängig von unseren Untersuchungen (s. Anm. auf p. 469), die gleiche Frage geprüft, um im wesentlichen zu denselben Ergebnissen zu kommen, wie sie in der auf p. 469, Anm. angeführten und der vorliegenden Arbeit veröffentlicht worden sind.

Rotlaufserums auf seine Spezifität vorausgeschickt. Die Präzipitation wurde zu diesem Zwecke mit folgenden in der Tabelle I verzeichneten Extrakten angesetzt:

Tabelle I.

	Präzipit. Rotlauf- serum (Ascoli)	Normales Pferde- serum (Institutspferd)
mit Rotlaufbacillenextrakt	++++	—
„ Rotlaufschweinenierenextrakt	++++	—
„ Normalschweinenierenextrakt	—	—
„ Schweinepestorganextrakt	—	—
„ Ferkeltyphusorganextrakt	—	—
„ Milzbrandorganextrakt	—	—
„ Rotzbacillenextrakt	—	—
„ Tuberkelbacillenextrakt	—	—
„ Milzbrandbacillenextrakt	—	—
„ Ferkeltyphusbacillenextrakt	—	—
„ Abortusbacillenextrakt	—	—
„ Drusestreptokokkenextrakt	—	—
„ Typhusbacillenextrakt	—	—
„ Paratyphus A-Bacillenextrakt	—	—
„ „ B-Bacillenextrakt	—	—
„ Gärtner-Bacillenextrakt	—	—
„ Glässer-Bacillenextrakt	—	—
„ Suipestifer-(Kunzendorf-)Bacillenextrakt	—	—
„ Hühnertyphusbacillenextrakt	—	—
„ Coli-Bacillenextrakt	—	—

Zeichenerklärung: ++++ momentane Reaktion
 +++ Reaktion innerhalb 5 Minuten
 ++ „ „ 15 „
 + „ „ 30 „
 — keine Reaktion

Das Resultat dieser Prüfung war, daß das Rotlaufserum nur bei Berührung mit Rotlaufbacillen- bzw. Rotlauforganextrakt einen Ring bildete, während das Normalpferdeserum niemals reagierte.

Hierauf wurden die Versuche mit den Extrakten der Organe ausgeführt, die zur Feststellung des Rotlaufs an das Institut eingesandt worden waren. Die Reaktion wurde in den von Pfeiler (18) beschriebenen kleinen Präzipitationsröhrchen in der Weise angestellt, daß die Extrakte über das präzipitierende bzw. das Kontrollserum geschichtet wurden.

Am Tage der serologischen Untersuchung wurden Mäuse geimpft, um festzustellen, ob sich das Ergebnis der Präzipitation mit dem der Impfung deckte. Für jeden zu untersuchenden Fall wurde eine Maus subkutan infiziert¹⁾. Eine Uebersicht über diese Versuche gibt Tabelle II.

Aus den Aufzeichnungen ergibt sich, daß von 56 zur Untersuchung auf Rotlauf gelangten Fällen, die bei der mikroskopischen Prüfung ein negatives Ergebnis gezeitigt hatten, durch Mäuseimpfung 28mal Rotlaufbacillen nachweisbar waren (Fall 618, 631, 632, 640, 653, 663, 664, 693, 699, 700,

1) Die rein diagnostischen Ueberprüfungen der eingesandten Organe sind unabhängig von diesen Versuchen ausgeführt worden. Es wurden dabei in allen Fällen 2 Mäuse geimpft.

Tabelle II.

Untersuch.- No.	Datum der 1. Unter- suchung	Ausstriche	Todestag der Tiere	Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung	Präzipitation mit	
					Rotlauf- serum	normalem Pferde- serum
605	2. Juni 1914	keine Rot- laufbacillen	4. Juni	keine Rotlaufbacillen	+++	—
618	2. „ „	do.	8. „	Rotlaufbacillen	+++	—
631	4. „ „	„	10. „	„	—	—
632	4. „ „	„	7. „	„	—	—
634	4. „ „	„		lebt	—	—
639	4. „ „	„		„	+++	—
640	4. „ „	„	9. „	Rotlaufbacillen	++	—
647	5. „ „	„		lebt	—	++
651	5. „ „	„	10. „	keine Rotlaufbacillen	—	—
652	5. „ „	„	9. „	„	—	—
653	5. „ „	„	10. „	Rotlaufbacillen	++	—
656	5. „ „	„		lebt	+	—
657	5. „ „	„		„	++	—
663	5. „ „	„	9. „	Rotlaufbacillen	++++	—
664	5. „ „	„	9. „	„	—	—
693	8. „ „	„	13. „	„	++++	—
699	8. „ „	„	12. „	„	+++	—
700	8. „ „	„	13. „	„	—	—
701	8. „ „	„	10. „	keine Rotlaufbacillen	—	—
721	10. „ „	„	15. „	Rotlaufbacillen	+	—
722	10. „ „	„	15. „	keine Rotlaufbacillen	+	—
724	10. „ „	„	14. „	„	+++	—
728	10. „ „	„	12. „	„	+++	—
743	12. „ „	„	12. „	„	+++	—
747	12. „ „	„	15. „	Rotlaufbacillen	+	—
816	15. „ „	„	20. „	„	+++	—
819	15. „ „	„	19. „	„	+++	—
820	15. „ „	„	20. „	„	—	—
852	18. „ „	„	24. „	„	—	—
853	18. „ „	„	19. „	keine Rotlaufbacillen	+	—
855	18. „ „	„		lebt	+	—
856	18. „ „	„		„	+	+
868	19. „ „	„	21. „	keine Rotlaufbacillen	++	—
869	19. „ „	„	26. „	„	+++	—
873	19. „ „	„	20. „	„	+++	—
875	19. „ „	„	20. „	„	++	—
878	19. „ „	„	20. „	Rotlaufbacillen	+	—
882	19. „ „	„	20. „	keine Rotlaufbacillen	—	—
897	20. „ „	„	28. „	Rotlaufbacillen	++	—
900	20. „ „	„	28. „	„	+	—
919	22. „ „	„	24. „	keine Rotlaufbacillen	—	—
920	22. „ „	„	27. „	„	—	—
930	22. „ „	„	27. „	Rotlaufbacillen	—	—
932	22. „ „	„	27. „	„	—	—
944	23. „ „	„	24. „	keine Rotlaufbacillen	++	—
946	23. „ „	„	30. „	Rotlaufbacillen	++	—
961	24. „ „	„	26. „	keine Rotlaufbacillen	—	—
962	24. „ „	„	29. „	Rotlaufbacillen	++	—
963	24. „ „	„	28. „	„	—	—
964	24. „ „	„	28. „	„	++	—
969	24. „ „	„	30. „	„	—	—
970	24. „ „	„	25. „	keine Rotlaufbacillen	—	—
972	24. „ „	„	28. „	Rotlaufbacillen	++	—
973	24. „ „	„	26. „	keine Rotlaufbacillen	++	—
1020	26. „ „	„	1. Juli	Rotlaufbacillen	—	—
1021	26. „ „	„	30. Juni	keine Rotlaufbacillen	++	—

721, 747, 816, 819, 820, 852, 878, 897, 900, 930, 932, 946, 962, 963, 964, 969, 972 und 1020).

21mal starben die Mäuse, ohne daß es gelang, in ihren Organen Rotlaufbacillen zu finden.

7mal blieben die Mäuse am Leben.

Das Ergebnis der Präzipitation läßt sich demgegenüber folgendermaßen zusammenfassen:

2mal trat eine momentane Reaktion (++++) ein (Fall 663 und 693), 11mal wurde ein Ring innerhalb 5 Minuten beobachtet (+++, Fall 605, 618, 639, 699, 724, 728, 743, 816, 819, 869 und 873).

13mal zeigte sich ein Präzipitationsring innerhalb einer Zeit von 15 Minuten (++, Fall 640, 653, 657, 868, 875, 897, 944, 946, 962, 964, 972, 973 und 1021).

9mal wurde eine Reaktion erst innerhalb von 30 Minuten (+) gesehen (Fall 656, 721, 722, 747, 753, 855, 756, 878 und 900).

21mal blieb die Reaktion vollständig aus (—).

Bei den Kontrollprüfungen mit normalem Pferdeserum trat, um dies der Vollständigkeit wegen zu erwähnen, einmal innerhalb von 15 Minuten ein Ring (++, Fall 647) und einmal innerhalb $\frac{1}{2}$ Stunde (+, Fall 856) ein.

Den Ergebnissen des für die praktische Rotlaufdiagnose bei negativem Ausfall der mikroskopischen Untersuchung maßgebenden Tierversuches gegenüber sehen wir, daß die Präzipitation 17mal positiv ausfiel, wenn durch den Tierversuch die Diagnose Rotlauf gesichert worden war (Fall 618, 640, 653, 663, 693, 699, 721, 747, 816, 819, 878, 897, 900, 946, 962, 964 und 972).

18mal war die Präzipitation positiv, wenn die Diagnose Rotlauf auf andere Weise nicht erbracht werden konnte (Fall 605, 639, 656, 657, 722, 724, 728, 743, 753, 855, 856, 868, 869, 873, 875, 944, 973, 1021); dabei muß darauf hingewiesen werden, daß alle Fälle, bei denen ein schwacher Ring auch innerhalb einer Zeit von 30 Minuten festgestellt werden konnte, in die Berechnung eingeschlossen worden sind. Wir glaubten, diese Fälle auf Grund der Ergebnisse der Präzipitationsmethode als verdächtig ansehen zu müssen, da in den Kontrollröhrchen nicht die Spur einer Reaktion zu verzeichnen war, heterogene Substanzen also dieselbe nicht hervorgerufen haben dürften. Zu dieser Auffassung der Sachlage sahen wir uns deshalb veranlaßt, weil in einzelnen Fällen, wo durch die Impfung Rotlauf ermittelt worden war, die Präzipitation in gleicher Stärke (d. h. 1 +) beobachtet werden konnte (Fall 721, 747, 878 und 900).

11mal trat kein Ring auf, obgleich die Diagnose Rotlauf durch die Mäuseimpfung gesichert erschien (Fall 631, 632, 664, 700, 820, 852, 930, 932, 963, 969, 1020).

10mal blieb die Ringbildung aus, wenn kein Rotlauf vorlag (Fall 634, 647, 651, 652, 701, 882, 919, 920, 961, 970).

Diese sich so widersprechenden Ergebnisse decken sich vollständig mit denen der Versuche Dreschers (3). Mithin können wir die seinerzeit gemachte Erfahrung vollauf bestätigen, daß die Rotlaufpräzipitation, auch an frischem Material ausgeführt, für die praktische Diagnose unbrauchbar ist. —

Der zweite Teil unserer Versuche erstreckte sich auf die Untersuchungen von faulem Material.

Die schon einmal untersuchten Schweinenieren wurden 10 Tage in sterilen Petri-Schalen bei Zimmertemperatur (etwa 18–20°) aufgehoben. Von den jetzt in stark faulem Zustande befindlichen Nieren wurden wieder, wie vorher, Ausstriche gemacht, Chloroformextrakte hergestellt und je eine Maus geimpft, jedoch nur von den Fällen, bei denen durch die erste Untersuchung kein Rotlauf festgestellt worden war. Die Klärung der Extrakte war mitunter schwierig. Für die Reaktion wurden nur völlig geklärte Extrakte benutzt.

Die Resultate der Versuche sind aus Tabelle III zu ersehen (p. 476).

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß 50mal sofort oder innerhalb weniger Minuten ein sehr starker Ring auftrat und nur in 4 Fällen die Reaktion ausblieb¹⁾. Bei 2 dieser negativen Fälle war auch das erste Mal keine Präzipitation in Erscheinung getreten (Fall 647 und 920).

In den 28 Fällen, bei denen das erste Mal durch Mäuseimpfung keine Rotlaufbacillen festgestellt werden konnten, wurden durch die 10 Tage später erfolgte 2. Impfung noch 22mal solche Bakterien isoliert (Fall 605, 639, 651, 722, 724, 728, 853, 855, 856, 868, 869, 873, 875, 878, 919, 920, 944, 946, 961, 970, 973 und 1021).

Vergleichen wir die Resultate der ersten Präzipitationsversuche mit denen der 10 Tage später erfolgten, dann fällt sofort die große Mehrzahl der positiv reagierenden Fälle auf; während die Präzipitation mit frischen Organen in 62,6 Proz. aller Fälle positiv ausfiel, war sie dies mit Extrakten aus zersetztem Material in 92,6 Proz. aller Fälle.

Der negative Ausfall der Präzipitation stimmt in allen 4 Fällen mit dem der Mäuseimpfung nicht überein, denn 2mal konnten schon durch die 1. Impfung Rotlaufbacillen isoliert werden und 2mal durch die 2. Impfung. —

Nach weiteren 10 Tagen wurde die Präzipitation an dem jetzt bis zur Zerfließlichkeit faulen Material wiederholt. Die sofort und bedeutend stärker auftretende Ringbildung blieb nur in 1 Falle aus (972). Dagegen trat 14mal eine deutliche Ausfällung bei Schichtung über Normalpferdeserum ein (Fall 647, 657, 663, 699, 724, 743, 747, 878, 882, 900, 919, 920, 930 und 944).

Danach stellen wir uns mit denjenigen Autoren auf einen Standpunkt, die aussagen, daß die Reaktion mit Extrakten aus faulem Material noch schärfer ausgeprägt ist als bei Verwendung frischer Organe. Wenn aber Untersucher wie Zagaja (7) glauben, daß die verstärkt auftretende Präzipitation unter dem Einfluß des Rotlaufserums auf die Auflösungsprodukte der Rotlaufbacillen zustande kommt und die Präzipitation daher besonders für die Feststellung des Rotlaufs an verfaulten Organen zu empfehlen sei, so ist sowohl durch unsere als auch Schlotes (16) Prüfungen bewiesen, daß, entgegen der Annahme As-

1) Die Fälle 669 und 820 wurden bei der Verfolgung der Frage nicht mehr berücksichtigt, da das Material eingetrocknet war. Für die Prüfung standen mithin nur noch 54 Fälle zur Verfügung.

Tabelle III.

Lfde. No.	Datum der Untersuchung	Ausstriche	Impftiere	Präzipitation mit	
				Rotlaufserum	normalem Pferdeserum
605	12. Juni 1914	keine Rotlaufbac.	† 15. Juni Rotlaufbacillen	+++	—
618	12. " "	Rotlaufbacillen	nicht geimpft	++++	—
631	14. " "	" "	" "	++++	—
632	14. " "	keine Rotlaufbac.	" "	++++	—
634	14. " "	" "	" "	++++	—
639	14. " "	" "	† 18. Juni Rotlaufbacillen	++++	—
640	14. " "	" "	nicht geimpft	++++	—
647	15. " "	" "	" "	—	—
651	15. " "	" "	† 20. Juni Rotlaufbacillen	+++	—
652	15. " "	" "	† 20. Juni keine Rotlaufbac.	+++	—
653	15. " "	" "	nicht geimpft	+++	—
656	15. " "	" "	† 19. Juni keine Rotlaufbac.	+++	—
657	15. " "	" "	nicht geimpft	++++	—
663	15. " "	" "	" "	++++	—
664		scheidet aus, Organe eingetrocknet			
693	18. " "	keine Rotlaufbac.	nicht geimpft	++++	—
699	18. " "	" "	" "	++++	+++
700	18. " "	" "	" "	+++	—
701	18. " "	" "	† 20. Juni keine Rotlaufbac.	+++	—
721	20. " "	" "	nicht geimpft	+++	—
722	20. " "	" "	† 30. Juni Rotlaufbacillen	+++	—
724	20. " "	" "	† 23. " "	+++	—
738	20. " "	" "	† 1. Juli " "	+++	+++
743	22. " "	" "	† 25. Juni keine Rotlaufbac.	+++	—
747	22. " "	" "	nicht geimpft	+++	+++
816	25. " "	" "	" "	+++	—
820		scheidet aus, Organe vertrocknet			
852	28. " "	keine Rotlaufbac.	nicht geimpft	++++	—
853	28. " "	" "	† 2. Juli Rotlaufbacillen	++++	—
855	28. " "	einzelne rotlaufverd. Stäbchen	† 3. " "	++++	—
856	28. " "	do.	† 2. " "	++++	—
868	29. " "	" "	† 4. " "	++++	++++
869	29. " "	keine Rotlaufbac.	† 4. " "	++++	—
873	29. " "	" "	† 4. " "	++++	—
875	29. " "	einzelne rotlaufverd. Stäbchen	† 4. " "	+++	—
878	29. " "	keine Rotlaufbac.	† 4. " "	+++	—
882	29. " "	" "	† 30. Juni keine Rotlaufbac.	++++	—
897	30. " "	" "	nicht geimpft	+++	—
900	30. " "	" "	" "	+++	—
919	2. Juli	" "	† 6. Juli Rotlaufbacillen	+++	—
920	2. " "	" "	† 6. " "	—	—
930	2. " "	" "	nicht geimpft	+	—
932	2. " "	" "	" "	++++	++++
944	2. " "	" "	† 5. Juli Rotlaufbacillen	++++	—
946	2. " "	" "	† 7. " "	—	—
961	4. " "	" "	† 7. " "	+++	+++
962	4. " "	" "	nicht geimpft	+++	+++
963	4. " "	" "	" "	+++	—
964	4. " "	" "	" "	+++	—
970	4. " "	einzelne rotlaufverd. Stäbchen	† 8. Juli Rotlaufbacillen	++	—
972	4. " "	keine Rotlaufbac.	nicht geimpft	—	—
973	4. " "	einzel. rotl.-verd. Stäb.	† 9. Juli Rotlaufbacillen	+++	—
1020	6. " "	keine Rotlaufbac.	† 7. Juli keine Rotlaufbac.	+++	+++
1021	6. " "	" "	† 8. " Rotlaufbacillen	+++	+++

colis (15), so gut wie regelmäßig in Fäulnisgemischen „Murisepticus“-Bacillen vorkommen, auf die Rotlaufserum präzipitierend wirkt. Nach unserer Auffassung dürften, bei nur einigermaßen vorgeschrittener Fäulnis des Materials, diese positiven Reaktionen in der diagnostischen Praxis zu großen Irrtümern Anlaß geben. Wir halten daher die Anwendung des Präzipitationsverfahrens für diesen Zweck zurzeit nicht für geraten. —

Da vielleicht von anderer Seite der Einwand gemacht werden könnte, die von uns isolierten Bakterien seien in allen Fällen echte Rotlaufbacillen gewesen, da sie aus Organen von rotlaufverdächtigen Schweinen

Tabelle IV.

Lfd. No.	Datum der Untersuchung	Ausstriche	Todesstag der Impftiere	Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung	Präzipitation mit	
					Rotlaufserum	normalem Pferdeserum
1	4. Juli 1914	keine Rotlaufbacillen		nicht geimpft	—	—
	7. „ „	do.	8. Juli	keine Rotlaufbacillen	—	—
	14. „ „	einzelne rotl. verd. Stäbchen	16. „	„ „	++	—
2	4. „ „	keine Rotlaufbacillen		nicht geimpft	—	—
	7. „ „	do.	8. „	keine Rotlaufbacillen	—	—
	14. „ „	„	18. „	„ „	++++	—
3	4. „ „	„	8. „	nicht geimpft	—	—
	7. „ „	„	8. „	keine Rotlaufbacillen	—	—
	14. „ „	„	16. „	Rotlaufbacillen	++	—
4	4. „ „	„		nicht geimpft	—	—
	7. „ „	„	9. „	keine Rotlaufbacillen	—	—
	14. „ „	„	16. „	„ „	+++	—
5	4. „ „	„		nicht geimpft	—	—
	7. „ „	„	8. „	keine Rotlaufbacillen	—	—
	14. „ „	„		lebt	++	—
6	4. „ „	„		nicht geimpft	—	—
	7. „ „	„	9. „	Rotlaufbacillen	+++	—
	14. „ „	„		„	+++	—
7	4. „ „	„		nicht geimpft	—	—
	7. „ „	„	12. „	keine Rotlaufbacillen	—	—
	14. „ „	„	16. „	„ „	+++	—
8	4. „ „	„		nicht geimpft	—	—
	7. „ „	„	10. „	keine Rotlaufbacillen	+	—
	14. „ „	„	15. „	„ „	++	—
9	4. „ „	„		nicht geimpft	—	—
	7. „ „	„	8. „	keine Rotlaufbacillen	—	—
	14. „ „	„	18. „	Rotlaufbacillen	++++	—
10	4. „ „	„		nicht geimpft	—	—
	7. „ „	einzelne rotl. verd. Stäbchen	10. „	Rotlaufbacillen	++++	—
	14. „ „	keine Rotlaufbacillen		„	„	„
11	4. „ „	do.		nicht geimpft	—	—
	7. „ „	„	8. „	keine Rotlaufbacillen	—	—
	14. „ „	„	16. „	„ „	—	—
12	4. „ „	„		nicht geimpft	—	—
	7. „ „	„	13. „	Rotlaufbacillen	+++	—
	14. „ „	„		„	„	„

stammten, der Beweis des Gegenteils durch morphologisch-biochemische oder agglutinatorische Differenzierung bisher aber unmöglich ist, stellten wir auch Versuche über das Verhalten des präzipitierenden Rotlaufserums gegenüber Extrakten aus Nieren gesunder Schweine an. Die Organe wurden im frischen und faulen Zustande untersucht. In Analogie zu den vorhergehenden Versuchen wurden Mäuse geimpft.

Verwendet wurden die Nieren von 34 Schlachtschweinen, die wir vom städtischen Schlachthof bezogen hatten. Nachdem wir uns durch Ausstriche überzeugt hatten, daß auf diese Weise in keinem Falle Rotlaufbacillen in den Nieren nachzuweisen waren, wurden Extrakte in der schon beschriebenen Art und Weise hergestellt. Die Präzipitation mit den aus den frischen Organen bereiteten Extrakten verlief negativ.

Nachdem das steril aufbewahrte Material 3–10 Tage bei Zimmertemperatur gehalten worden war, wiederholten wir unsere Präzipitationsversuche mit dem faulen Material. Außerdem wurde in jedem Falle eine Maus geimpft (siehe Tabelle IV, erster Teil der Versuche, Organe von 12 Tieren).

Aus der Tabelle IV ist zu entnehmen, daß aus 12 untersuchten „Normalnieren“ 5mal Rotlauf- bzw. Murisepticus-Bacillen gezüchtet werden konnten. 3mal ließen sich diese Bacillen schon nach 3-tägigem Verweilen der Organe bei Zimmertemperatur und 2mal nach 10 Tagen isolieren.

Die Präzipitation fiel schon am 3. Tage 4mal positiv aus. 3mal waren in diesen Fällen Rotlaufstäbchen gefunden worden (6, 8, 12). Nach 10 Tagen trat die Präzipitation in 11 Fällen in Erscheinung, im 12. Falle blieb die Reaktion auch nach so langer Fäulnis aus (Fall 11). Die Versuche mit Normalpferdeserum verliefen negativ, d. h. eine Präzipitation mit Extrakten aus mehr oder minder faulen Organen gesunder Schlachtschweine blieb aus.

14 andere „Normalschweinenieren“ wurden am Tage der Schlachtung bzw. am 6. und 16. Tage nach dieser untersucht (Tabelle V).

Es konnten also aus den 14 Nieren gesunder Schweine 10mal Rotlaufstäbchen isoliert werden, 2mal gelang dies schon 3 Tage nach Entnahme der Nieren aus den Schweinen (Fall 16 und 17). In Anbetracht des Ergebnisses der Prüfung dieser beiden Fälle entsteht die Frage, ob die so auffallende bakteriologische Feststellung nicht dadurch verursacht worden ist, daß die Schweine, von denen die Nieren stammten, kurz vor dem Schlachten der Rotlaufschutzimpfung unterworfen worden waren, oder aber, unter rotlaufverdächtigen Erscheinungen erkrankt, an den Schlächter weiter verkauft worden sind. Eine Aufklärung sind wir nach dieser Seite hin zu geben nicht imstande; es bleibt uns nichts übrig, als die Tatsache zu konstatieren, daß aus frischen Organen genußtauglich erklärter Schlachtschweine Rotlaufbacillen gezüchtet worden sind.

In 6 Fällen war es möglich, Rotlaufbacillen nach 6 Tagen zu züchten und in 2 Fällen nach 16 Tagen.

Die Präzipitation trat in dieser Versuchsreihe regelmäßig

Tabelle V.

Lfd. No.	Datum der Untersuchung	Ausstriche	Todestag der Impftiere	Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung	Präzipitation mit	
					Rotlaufserum	normalem Pferdeserum
13	28. Juli 1914	keine Rotlaufbacillen	30. Aug.	keine Rotlaufbacillen	—	—
	3. Aug. "	do.	4. "	" "	+++	—
	13. " "	"	16. "	" "	.	.
14	28. Juli "	"	30. "	" "	—	—
	3. Aug. "	"	5. "	Rotlaufbacillen	+++	—
	13. " "	"		nicht mehr geimpft	.	.
15	28. Juli "	"		lebt	—	—
	3. Aug. "	"	5. "	keine Rotlaufbacillen	+++	—
	13. " "	"	16. "	Rotlaufbacillen	.	.
16	28. Juli "	"	1. "	nicht mehr geimpft	+++	—
	3. Aug. "	"		" "	.	.
17	28. Juli "	"	1. "	Rotlaufbacillen	—	—
	3. Aug. "	"		nicht mehr geimpft	+++	—
	13. " "	"		" "	.	.
18	28. Juli "	"	30. "	keine Rotlaufbacillen	—	—
	3. Aug. "	"	6. "	Rotlaufbacillen	+++	—
	13. " "	"		nicht mehr geimpft	.	.
19	28. Juli "	"	31. Juli	keine Rotlaufbacillen	—	—
	3. Aug. "	"	6. Aug.	" "	+++	—
	13. " "	"	11. "	" "	.	.
20	28. Juli "	"	29. Juli	" "	—	—
	3. Aug. "	"	6. Aug.	" "	+++	—
	13. " "	"	16. "	" "	.	.
21	28. Juli "	"	1. "	" "	—	—
	3. Aug. "	"	6. "	" "	+++	—
	13. " "	"	16. "	" "	.	.
22	28. Juli "	"		lebt	—	—
	3. Aug. "	"	5. "	Rotlaufbacillen	+++	—
	13. " "	"		nicht mehr geimpft	.	.
23	28. Juli "	"		lebt	—	—
	3. Aug. "	"	5. "	Rotlaufbacillen	+++	—
	13. " "	"		nicht mehr geimpft	.	.
24	28. Juli "	"		lebt	—	—
	3. Aug. "	"	5. "	Rotlaufbacillen	+++	—
	13. " "	"		nicht mehr geimpft	.	.
25	28. Juli "	"		lebt	—	—
	3. Aug. "	"	8. "	Rotlaufbacillen	+++	—
	13. " "	"		nicht mehr geimpft	.	.
26	28. Juli "	"		lebt	.	.
	3. Aug. "	"	6. "	keine Rotlaufbacillen	—	—
	13. " "	"	16. "	Rotlaufbacillen	+++	—

vom 6. Tage, also dem Tage der 2. Untersuchung, an auf, auch wenn die Mäuseimpfung negativ verlaufen war.

Mit Rücksicht auf die Feststellung von Rotlauf- bzw. Murisepticus-Bacillen schon am Tage der Entnahme der Nieren aus dem Körper sind weitere Versuche mit Nieren von frisch geschlachteten Schweinen ausgeführt worden, in denen bei allen Tieren geprüft wurde, innerhalb welcher Zeit die Verunreinigung der Organe durch Murisepticus-Bacillen und damit oder auch ohne eine solche präzipitable Substanzen auftreten. Die betreffenden Organe wurden des-

halb jeden Tag untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle VI verzeichnet.

Tabelle VI.

Lfde. No.	Datum der Untersuchung	Ausstriche	Todestag der Impftiere	Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung	Präzipitation mit	
					Rotlaufserum	normalem Pferdeserum
27	14. Juli 1914	keine Rotlaufbacillen	15. Juli	keine Rotlaufbacillen	—	—
	15. " "	do.	16. " "	" "	—	—
	16. " "	"	17. " "	" "	+++	—
	17. " "	"	18. " "	" "	+++	—
	18. " "	"	19. " "	" "	+++	—
	20. " "	"	21. " "	" "	.	.
	22. " "	"	25. " "	" "	.	.
	23. " "	"	25. " "	" "	.	.
28	17. " "	"	18. " "	" "	—	—
	18. " "	"	22. " "	" "	—	—
	20. " "	"	24. " "	Rotlaufbacillen	—	—
	21. " "	"			+++	—
29	28. " "	"	29. Juli	keine Rotlaufbacillen	—	—
	29. " "	"	30. " "	" "	—	—
	30. " "	"	31. " "	" "	—	—
	31. " "	"	1. Aug.	" "	—	—
	4. Aug. "	"	6. " "	" "	+++	—
	6. " "	"	8. " "	" "	+++	—
	7. " "	"	9. " "	Rotlaufbacillen	+++	—
30	28. Juli "	"	.	lebt	—	—
	29. " "	"	.		—	—
	30. " "	"	3. " "	Rotlaufbacillen	—	—
	31. " "	"	.		+++	—
31	29. " "	"	.	lebt	—	—
	30. " "	"	2. " "	Rotlaufbacillen	—	—
	31. " "	"	.		—	—
	4. Aug. "	"	.		+++	—
32	28. Juli "	"	.		—	—
	29. " "	"	.	lebt	—	—
	30. " "	"	1. " "	keine Rotlaufbacillen	++	—
	31. " "	"	1. " "	" "	++	—
	4. Aug. "	"	8. " "	Rotlaufbacillen	++	.
33	28. Juli "	"	.		—	—
	29. " "	"	.	lebt	—	—
	30. " "	"	1. " "	keine Rotlaufbacillen	—	—
	31. " "	"	4. " "	Rotlaufbacillen	++	—
	4. Aug. "	"	.		++	.
34	28. Juli "	"	.	lebt	—	—
	29. " "	"	.		—	—
	30. " "	"	4. " "	Rotlaufbacillen	—	—
	31. " "	"	2. " "	keine Rotlaufbacillen	—	—
	4. Aug. "	"	.		++	—

Wie die Tabelle VI zeigt, gelang es, Rotlaufbacillen

1mal am 2. Tage 1mal am 7. Tage¹⁾
 3 " " 3. " 1 " " 10. "
 1 " " 4. "

durch Mäuseimpfung nachzuweisen.

1) Zwischen dem 31. Juli und dem 4. August, den Tagen der Mobilmachung, sind die Untersuchungen nicht ausgeführt worden.

1mal gelang die Isolierung der gesuchten Bacillen nicht (Fall 27).

Die Präzipitation trat fast immer am 3. und 4. Tage auf, 4mal wurde sie erst beobachtet, nachdem Rotlaufbacillen schon nachgewiesen worden waren.

Die Feststellungen der beiden letzten Versuchsreihen sind, auch was die rein bakteriologische Sicherung der Rotlaufdiagnose anlangt, von nicht zu unterschätzender Bedeutung, wenn man die Art und Weise berücksichtigt, wie heute praktisch die Diagnose Rotlauf, hauptsächlich im Hinblick auf die sogenannte Entschädigungsfrage, gestellt wird. Die Prüfung dieser Frage wird die tierärztlichen Laboratorien noch eingehend zu beschäftigen haben.

Jedenfalls erscheint uns die Präzipitationsmethode für die praktische Diagnose des Rotlaufs unbrauchbar, weil in einer grossen Anzahl von Fällen die Reaktion positiv ausfällt, wenn Rotlaufbacillen weder mikroskopisch, noch durch den Tierversuch nachzuweisen sind. Andererseits bleibt die Reaktion oft aus, wenn auf Grund mikroskopischer oder kultureller Untersuchung bzw. durch den Tierversuch die Diagnose Rotlauf gesichert erscheint.

Literatur.

- 1) Vaney, De la réaction précipitante dans le Rouget. (Compt. rend. hebd. des séanc. et mém. de la Soc. de Biol. T. 2. 1910. p. 138.)
- 2) Ascoli, Die Anwendung der Thermopräzipitation bei der Diagnose des Schweinerotlaufs. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 10.)
- 3) Drescher, Die Erkennung des Rotlaufs der Schweine mittels der Präzipitationsmethode. (Mitt. Inst. f. Landw. Bromberg. Bd. 5. p. 322.)
- 4) Iwicki, Die Ascolische Thermopräzipitinreaktion als diagnostisches Hilfsmittel beim Rotlauf der Schweine. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 23; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1913. p. 523.)
- 5) Raebiger, Protokoll des Vereins der Thüringer Tierärzte. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 32.)
- 6) Profé, Protokoll des Vereins Rheinpreussischer Tierärzte. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 43.)
- 7) Zagaja, Die Schweinerotlaufdiagnose mittels der Thermopräzipitinreaktion Ascolis. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 45.)
- 8) Silva, Die Ascolische Thermopräzipitation beim Rotlauf der Schweine. (Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1912. No. 21.)
- 9) Gauss, Untersuchungen über die Thermopräzipitation zum Nachweis des Schweinerotlaufs. [Inaug.-Diss. Kgl. Tierärztl. Hochschule] Stuttgart 1912.
- 10) Schulte, Die Präzipitation mit besonderer Berücksichtigung der Thermopräzipitinreaktion beim Rotlauf der Schweine. [Inaug.-Diss.] Hannover 1913.
- 11) Hecht, Die Präzipitindiagnose des Rauschbrandes mit einem Beitrag zur Frage der Thermoresistenz der Präzipitogene. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1912. H. 5.)
- 12) Isabolinsky u. Patzewitsch, Ueber die Präzipitinreaktion bei Schweinerotlauf. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1912. p. 284.)
- 13) Declich, Präzipitation bei Schweinerotlauf. (Tierärztl. Centralbl. 1912. No. 9.)
- 14) Seibold, Beitrag zur Feststellung des Rotlaufs der Schweine mit Hilfe der Thermopräzipitinreaktion nach Ascoli. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 13. 1913. H. 1/2.)
- 15) Ascoli, Ergebnisse und Ausblicke der Thermopräzipitinreaktion. (Virch. Arch. Bd. 213. 1913. H. 2/3.)
- 16) Schlote, Ueber den Einfluß der Bacillen der Mäusesepdikämie (Koch) (Bac.

Erste Abt. Orig. Bd. 77.

Heft 7.

31

- murisepticus Flüge) auf die Präzipitation fauler gesunder Organe mit Rotlaufserum. [Inaug.-Diss.] Hannover 1914.
- 17) Schütz u. Pfeiler, Der Nachweis des Milzbrandes mittels der Präzipitationsmethode. (Arch. f. wiss. Tierheilk. 1912. p. 324.)
- 18) Pfeiler, Ein neues Präzipitationsröhrchen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 70. 1913. p. 325.)
- 19) Pfeiler u. Roepke, Ueber eine mögliche Fehlerquelle bei der bakteriologischen Rotlaufdiagnose. (Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1915. p. 40.)

Nachdruck verboten.

Eine in *Geoplana* parasitierende Gregarine.

Von Dr. O. Fuhrmann, Universität Neuchâtel.

Mit 7 Figuren im Text.

In Turbellarien sind nur wenige Arten von Gregarinen gefunden worden, und aus Tricladen kennen wir bis jetzt 1 oder 2 Arten des Genus *Lankesteria*, welche in Süßwassertricladen parasitierend gefunden wurden. Kosmanovič¹⁾ und Busson²⁾ haben in ihren Arbeiten über terrestrische *Geoplana*-Arten (*Geoplana steenstrupi*, *G. olivacea*) eiförmige, 120—180 μ lange, 100—120 μ im Durchmesser messende Gregarinen gefunden, welche aber nicht näher beschrieben werden. Von den in Turbellarien beobachteten Gregarinen ist einzig die in *Planaria* und *Sorocoelis* des Baikalsees parasitierende *Lankesteria* sp. von Swarczewsky³⁾ eingehend untersucht worden. Dieser Parasit findet sich intracellulär im Darmepithel und wandert von da ins Parenchym, wo die Sporulation vor sich geht. Swarczewsky konnte nicht mit Sicherheit feststellen, wie die Sporen ausgestoßen werden; er glaubt, daß dies durch den Darm geschieht. Ganz anders liegen die Verhältnisse bei der von mir beobachteten Gregarine.

Auf unserer Reise in Columbien⁴⁾ haben wir in *Geoplana becki* Fuhrm. der Ostkordillere und in *Geoplana amagensis* Fuhrm. der Zentralkordillere mehrfach in sehr großer Zahl eine interessante Gregarine angetroffen, welche namentlich bei letzterer Art in einigen Fällen so zahlreich war, daß das lebende Tier dorsal ganz bedeckt war von weißen Punkten, welche sich bei der Untersuchung als direkt unter der Epidermis liegende, reife Cysten von Gregarinen erwiesen. Interessant ist nun der Umstand, daß diese Gregarine in vollentwickeltem Zustand sowohl frei im Darm als auch im Parenchym lebt. Besonders zahlreich fanden sich diese Parasiten im Parenchym, weit weniger zahlreich frei in der Darmhöhle, woselbst sie auffallenderweise, wie wir weiter unten angeben werden, eine einfachere Struktur aufwiesen. Im Parenchym lagen sie frei, d. h. ohne daß sich eine Cystenwand um dieselben gebildet

1) Beitrag zur Kenntnis der Anatomie der Landplanarien. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 65. 1898.)

2) Ueber einige Landplanarien. (Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. Wien. Bd. 112. 1903.)

3) Beobachtungen über *Lankesteria* sp., eine in Turbellarien des Baikalsees lebende Gregarine. (Festschr. R. Hertwigs. Bd. 1. 1910.)

4) Fuhrmann, O., et Mayer, Eug., Voyage d'exploration scientifique en Colombie. (Mém. de la Soc. Neuchâtel. des sc. nat. T. 5. 1914.)

hatte, und auch bei kopulierenden und in Sporulation begriffenen Individuen war keine solche zu konstatieren. Ueberall sahen wir das Parenchym die Gregarine unverändert umgeben oder höchstens durch den Druck des ziemlich großen Parasiten sich etwas verdichten. Während die einzelnen Gregarinen in der Nähe des Darmes und zwischen den

Fig. 2.

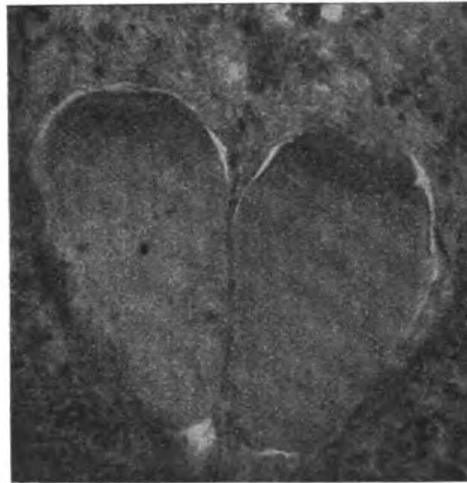


Fig. 1.

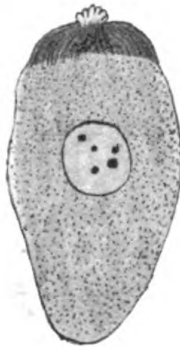


Fig. 3.

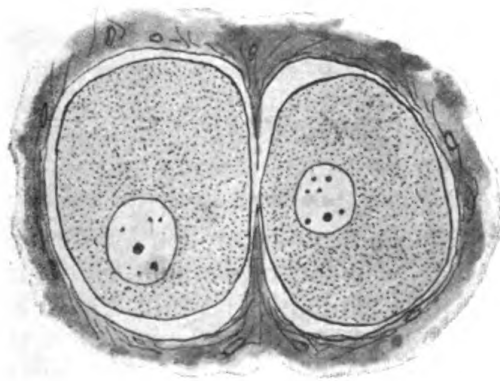


Fig. 4.

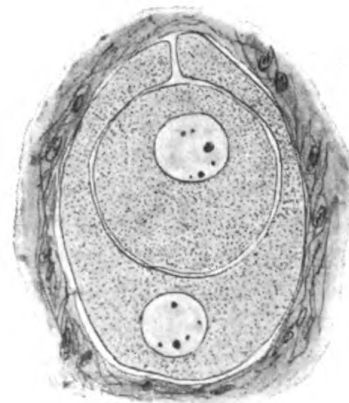
Fig. 1. *Rhynchocystis geoplanæ*.

Fig. 2. 2 sich nähernde Gregarinen (Photographie).

Fig. 3. 2 sich vereinigende Kopulanten.

Fig. 4. 2 Kopulanten, von welchen der eine den anderen umfaßt.

Verzweigungen desselben lagen, fanden wir die kopulierenden, in Sporulation begriffenen und mit Sporen erfüllten nahe der Oberfläche der Dorsal- und Ventralseite des Wirtes, häufig direkt unter der Epidermis. Wir haben mehrfach auf Schnitten den Durchbruch der mit reifen Sporen erfüllten Cysten gesehen und gehen wohl nicht fehl, wenn wir annehmen, daß die Sporen, welche an der Oberfläche des Körpers austreten, durch den Mund (vielleicht mit einem Zwischenwirt) in den Darm der Planarie gelangen, woselbst sie heranwachsen, um dann ins Parenchym zu dringen

und sich nach einiger Zeit zu kopulieren. Dabei wandern sie an die Peripherie des Tieres, woselbst die einer Cyste entbehrenden Sporenmassen direkt unter die Epidermis dringen und, wenn die Sporen reif sind, durch Platzen der Haut austreten.

Das Verbleiben im Darm scheint meist kurz zu sein, denn wir haben im Darm selbst nur fast oder ganz ausgewachsene Gregarinen gefunden, während im Parenchym, nahe dem Darm gelegen, öfters kleine Gregarinen gefunden wurden, die nur 0,024–0,06 mm maßen. Dieser Umstand, wie das Fehlen eines Epimeriten bei den Darmparasiten, scheint auf die Existenz von 2 verschiedenen Arten hinzuweisen, doch sind die Größe und die Struktur von Plasma und Kern so ähnlich, daß es sich vielleicht auch um vereinzelte, aus dem Parenchym in den Darm gewanderte Individuen handelt, die ihren Epimeriten dabei verloren haben? Die oben erwähnten zahlreichen, kleinen Gregarinen ermangeln übrigens ebenfalls des Epimeriten. Vielleicht entwickelt sich

Fig. 5.



Fig. 6.



Fig. 7.



Fig. 5 u. 6. Sporulation der Gregarinen.
Fig. 7. Scheitel des Pseudoepimeriten.

derselbe erst, wenn die Gregarinen eine gewisse Größe erreicht haben. Die größten Exemplare messen 0,28 mm bei einem Durchmesser von 0,08 mm, meist fanden wir aber folgende Maße: Länge 0,11–0,2 mm, Durchmesser 0,05–0,09 mm. Am Vorderende des länglich-ovalen Parasiten zeigt sich ein eigentümlicher, leicht gekerbter, einem Epimeriten ähnlicher Fortsatz, der hohl zu sein scheint, indem sich sein Inhalt nicht färbt. Das vordere Sechstel der Zelle ist von homogenem, sich stark färbenden Plasma erfüllt und enthält ein Häufchen glänzender Körner; wie schon bemerkt, dringt dieses Protoplasma nicht in den Pseudoepimeriten ein. Der größte Teil des Zellkörpers ist mit einem feinen, retikulären, sich schwach färbenden Protoplasma erfüllt. Ungefähr in der Mitte des Körpers liegt ein je nach der Größe des Parasiten 0,025 bis 0,052 mm im Durchmesser messender Kern mit deutlicher Membran; derselbe enthält meist ein größeres, 0,007–0,01 mm großes Karyosom und einige wenige kleinere Chromatinkörner. Die Längsstreifung der Körperoberfläche ist schwer sichtbar und scheint sich nur im Vorderteil des Körpers zu finden; nur einmal sah ich dieselbe auf die ganze Länge des Tieres sich erstrecken.

Bevor wir die weitere Entwicklung des Parasiten kurz besprechen, sei zunächst die systematische Stellung desselben bestimmt. Leider haben wir die Gregarine nicht am lebenden Material studieren können, so daß es schwierig ist, über die wirkliche Gestaltung und Funktion

des Pseudoepimeriten eine zutreffende Vorstellung zu erhalten. Bei den im Parenchym liegenden Parasiten sah ich mehrfach den farblosen Pseudoepimeriten im Parenchym stecken, wie wenn er als Fixationsorgan (oder Ernährungsorgan?) dienen würde.

Was nun die systematische Stellung dieser Gregarine anbetrifft, so sind wir geneigt, dieselbe vorläufig in das Genus *Rhynchocystis* Hesse¹⁾ zu setzen, und benenne ich den Parasiten *Rh. geoplanae*, obwohl er in manchen Punkten nicht vollkommen mit den in Oligochäten parasitierenden Vertretern dieses Genus übereinstimmt, was vielleicht dem Umstand zuzuschreiben ist, daß Hesse sein Material lebend, ich dagegen nur konserviert und offenbar kontrahiert untersuchen konnte.

Diese Gregarinen können sich im Parenchym bewegen, denn man sieht sie mehr der Körperoberfläche zu sich paarweise nähern, wobei die zuletzt dünne Parenchymscheidewand schwindet und beide Individuen dann sich aneinanderlegen. Dabei kommt es nicht selten vor, daß das eine Tier das andere vollständig oder fast vollständig umschließt. In der weiteren Entwicklung, die wir nicht näher beschreiben wollen, da sie nichts Besonderes zeigt, ist auffallend, daß das Parenchym um die beiden Zellen keine Cystenwand bildet, wodurch der Parasit beweglich bleibt, d. h. sich der Oberfläche ganz nähern kann. Alle Cysten messen 0,14—0,18 mm im Durchmesser. Die beiden Kopulanten bleiben sehr lange getrennt, und die in enormer Zahl sich bildenden sehr kleinen Zellkerne (0,0009 mm) zeigen in den beiden Kopulanten dieselbe Größe und Struktur. Sie sind ganz gleichmäßig im ganzen Plasma der Zelle verteilt und zeigen peripher 2 oder 3 feine Chromatinkörnchen. Erst wenn diese Kerne sich mit einer geringen Menge Protoplasma umgeben und so kleine, ca. 0,003 mm große, sphärische Zellen bilden, scheint die trennende Zellmembran der beiden Kopulanten zu schwinden. Es wird dann, was ich nicht verfolgen konnte, die Kopulation der Isogameten vor sich gehen, worauf die Bildung der Sporocyste stattfindet. Die Hüllen derselben sind sehr durchsichtig; sie messen 0,007 mm im Längs-, 0,0027 mm im Querdurchmesser. Die Sporen konnten wegen ihrer Kleinheit nicht gemessen werden. Die nun direkt unter der Epidermis gelegenen, sphärischen Sporocystenmassen entbehren jeder Hülle; das Parenchym umgibt sie ganz unverändert. Wie schon oben bemerkt, entleeren sich die Cysten an der Körperoberfläche der Planarie.

1) Hesse, E., *Monocystidées des oligochètes*. (Arch. de zool. exp. T. 3. 1909. p. 27.)

*Nachdruck verboten.**Acanthocotyle bothi* n. sp.

By G. A. Mac Callum, New York.

With 3 Figures in the text.

During a further study of more and better material of this obscure form obtained at Wood's Hole, Mass., U. S. Fish Laboratory 1915, from *Bothus maculatus* on its gills I am able, to add to and correct some points in its description, which appeared during 1913 in the Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 70.

Owing to the fact, that the body cavity is so completely filled with vitellaria from the disc to the pharynx and from the great number of testes, it was with the material then at my disposal almost impossible, to define the various internal organs.

I regret to find that some mistakes were made, which are so important, that they must be corrected.

The genital pore instead of being on the right side of the neck is certainly median, a short distance posterior to the pharynx and between

Fig. 1.

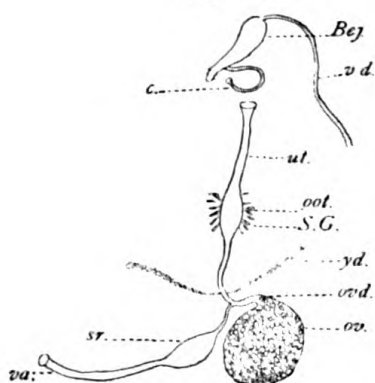


Fig. 2.



Fig. 3.

Fig. 1. Genitalia of *Acanthocotyle bothi* n. sp.

the branches of the coeca. It is about midway between the ovary and the pharynx. Overhanging the genital pore is a peculiarly shaped chitinous structure from which the real cirrus (see Fig. 1) coils emerging from it near its spiny point. The base of the chitinous case receives the vas deferens and possibly acts as a bulbus ejaculatorius and a short distance posterior to this is a fusiform seminal vesicle. The vagina is seen at the right side opposite the ovary and after dilating into a widened portion, the seminal reservoir joins the oviduct shortly after its origin (see Fig. 1). The vitelline ducts emerge from the vitellaria on each side a short distance in front of the ovary and proceed backward in a V-shaped form to join the oviduct before it enters the ootype. The pharynx is a peculiar bowl shaped structure, which on a lateral view shows around the middle of its whole circumference a line which runs in a regular scalloped direction. The margin or mouth is also evenly scalloped. This constitutes the lips of the mouth and they are very protrusible (see Fig. 2). The head or portion anterior to the pharynx is capable of curving itself from the margins so as to hold firmly any-

thing, it may be attached to or for the purpose of concentrating the functional efforts of the pharynx.

On looking into the pharynx from anteriorly which in certain positions is quite possible, the mucous lining is seen to be arranged in longitudinal folds corresponding to the curves on the lips (see Fig. 3). There are four eyes, two of which appear to be always placed just within the margins of the pharynx. They are close together; the other two are further apart and are more anterior.

Nachdruck verboten.

Selennährböden für die elektive Züchtung von Typhusbacillen.

[Aus dem Königl. Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten in Saarbrücken; Direktor: Prof. Dr. Haendel.]

Von Dr. F. Guth,
Abteilungsvorsteher am Institut.

Bei früheren, nicht veröffentlichten Versuchen hatten Haendel und Teodorascu die Wahrnehmung gemacht, daß die meisten Coli-Stämme durch selenigsaure Salze in ihrem Wachstum in höherem Grade beeinträchtigt wurden als Typhusbacillen. Da diese Beobachtung damals nicht weiter verfolgt werden konnte, veranlaßte mich Prof. Haendel, erneut Untersuchungen über die Wirkung solcher Salze auf die Entwicklung der genannten Bakterienarten aufzunehmen.

Die Giftigkeit der Selenverbindungen für den Tierkörper und dessen Fähigkeit, jene, unter Abscheidung von freiem Selen und Erzeugung flüchtiger, charakteristisch riechender Substanzen zu zersetzen, ist zuerst von Gmelin (1) beobachtet und später von Rabuteau (2), Czapek und Weil (3) und besonders von Hofmeister (4) eingehend studiert worden. Durch höhere Pflanzen kann nach Untersuchungen von Maaßen (5) eine Umwandlung der Selenverbindungen in flüchtige Körper nicht herbeigeführt werden, dagegen reagieren Schimmelpilze der verschiedensten Art und Bakterien, unter anderen *Bac. enteritidis* Gärtner, *Bac. proteus vulg.*, *Bac. typhi* und *Bac. coli* in ähnlicher Weise wie der tierische Organismus. Die Schimmelpilze vermögen zwar nicht, wie beim Arsen, auch die unlöslichen Verbindungen des Selen, z. B. das Schwefelselen und das freie Element, anzugreifen, oder doch nur in geringerem Grade und nach längerer Zeit; sie bilden die charakteristisch riechende Substanz aber aus allen löslichen Selenverbindungen. Bei den Bakterien beschränkt sich diese Fähigkeit auf die Salze der selenigen Säure. Während Hofmeister fand, daß der Geruch der Atemluft mit selenigsauren Salzen behandelter Tiere auf der Anwesenheit von Selenmethyl beruht, konnte Maaßen feststellen, daß der durch Mikroorganismen-tätigkeit hervorgerufene merkaptanähnliche Geruch durch Selenäthyl bedingt ist.

Chabrié u. Lapique (6) haben zuerst die mit der Abscheidung von freiem Selen einhergehende Reduktion von seleniger Säure durch

Mikroorganismen (Mischkulturen) erkannt. An Reinkulturen ist diese Erscheinung später von Scheurlen (7) und von Klett (8) eingehend geprüft worden, in der Erwartung, daß die zur Veranschaulichung der Reduktionsvorgänge in hervorragender Weise geeigneten selenigsauren Salze sich auch diagnostisch verwerten ließen, indem die einzelnen Bakterienarten, ihrem Reduktionsvermögen entsprechend, eine verschieden starke Färbung des Nährbodens durch freies Selen bewirken würden. Die mit der Reduktion der selenigsauren Salze durch Mikroorganismen gleichzeitig eintretende Bildung der flüchtigen Selenverbindung wurde erst von Maaßen festgestellt. Es ergab sich dabei, daß Reduktionsprozeß und Aethylsynthese zwar in Beziehungen zueinander stehen, jedoch nicht in der Art, daß mit der Zunahme der Selenabscheidung durch Reduktion auch eine Steigerung in der Aethylanlagerung verbunden ist. Die Ausfällung des freien Selen kann vielmehr so in den Vordergrund treten, daß die Bildung der Aethylverbindung ganz unterdrückt wird. Diese wird am kräftigsten erzeugt, wenn die Reduktion langsam und in beschränktem Maße vor sich geht.

Weitere Versuche Maaßens mit Buchnerschem Hefepreßsaft, mit abgetötetem Mycel von Schimmelpilzen und mit Mycelpreßsaft zeigten, daß die reduzierende Eigenschaft der Zellen durch eine Substanz bedingt ist, die auch losgelöst von der Zelle wirksam bleibt, daß jedoch der Aethylierungsvorgang, ebenso wie die Methylierung im Tierkörper, ein rein vitaler Prozeß ist. Nach Klett wird die Reduktion des selenigsauren Natriums durch Bakterien von der Zelle geleistet und nicht von ihren Stoffwechselprodukten. Zu dem gleichen Ergebnis kommt Gosio (9), der selenigsaure Salze (neben tellurigsaurem Kalium, das sich als besonders geeignet erwies) als mikrobiologischen Indikator für Sterilitätsprüfungen von Seris empfiehlt. Reduktionserscheinungen konnte er in den Flüssigkeiten weder durch Kulturen abgetöteter Keime, noch durch filtrierte lebende Kulturen erzielen.

Nach Maaßens Untersuchungen wirken die selenigsauren Salze in Mengen von 0,1 g auf 50 g Nährboden schon stark entwicklungshemmend auf Bakterien oder unterdrücken das Wachstum sogar vollständig. Die Zusätze werden zweckmäßig zwischen 0,005 g und 0,1 g auf 50 g Nährmaterial gewählt. Klett unterscheidet bezüglich der Wachstumshemmung durch Natriumselenit in mäßigen Mengen 3 Gruppen von Bakterien: solche, die stark, solche, die mäßig und solche, die kaum oder gar nicht gehemmt werden. Zu der letzten Gruppe zählt er unter anderen auch Typhus- und Coli-Bakterien, deren Wachstum auf Agarröhrchen mit einem Selenitzusatz bis zu etwa 0,1 Proz.¹⁾, abgesehen von der Rotfärbung der Kulturen durch reduziertes Selen, nach 48 Stunden die gleiche Entwicklung zeigte wie auf den Kontrollröhrchen. Wachstumsunterschiede, infolge veränderter Reaktion des Nährbodens, konnten (auf Nährgelatine) nicht festgestellt werden.

Eigene Untersuchungen.

Das für meine Untersuchungen verwendete selenigsaure Natrium (Natrium selenosum purissimum) wurde von E. Merck in Darmstadt

1) Klett verwendete Röhrchen, die 10—12 ccm Agar enthielten, und setzte bis zu 10 Tropfen einer 2-proz. Lösung von selenigsaurem Natrium hinzu. Die Nährböden hatten also einen Gehalt an Selenisalz bis zu etwa 0,1 Proz.

bezogen. Präparate anderer Firmen zeigten schon nach ihrer äußeren Beschaffenheit einen geringeren Reinheitsgrad. Für die zunächst mit Reinkulturen von Coli- und Typhusbacillen ausgeführten Versuche wurden je etwa 40 Stämme, die zur Hälfte aus Stühlen frisch isoliert waren, verwendet. Als Nährboden diente Extraktagar (1 Proz. Liebig's Fleischextrakt, 1 Proz. Pepton-Witte, 0,5 Proz. Kochsalz und 3 Proz. Agar enthaltend), dem abgestufte Mengen von Natriumselenit zugesetzt wurden und der für die einzelnen Versuche auf verschiedene Reaktion eingestellt war. Von den 24-stündigen Bakterien-Bouillonkulturen wurde je ein kleiner Tropfen auf einer Agar-Petri-Schale verrieben. Außerdem wurden auch Strichkulturen angelegt.

Die Versuche haben zu dem Ergebnis geführt, daß das Natriumselenit auf Coli-Bakterien in stärkerem Grade entwicklungshemmend wirkt als auf Typhusbacillen. Das Wachstum wird bei gleichem Selengehalt des Nährbodens, durch die Reaktion des letzteren erheblich beeinflusst, und zwar in der Weise, daß die bakterizide Wirkung des Selen-salzes mit zunehmender Alkalität abnimmt. Je alkalischer der Agar ist, um so größere Mengen Natriumselenit sind erforderlich, um bei noch eintretendem Typhuswachstum die Coli-Kolonien zu unterdrücken.

Auf saurem Nährboden (lackmusneutralem Agar, dem 0,3—0,5 Proz. Normalsalzsäure zugesetzt wurden) kamen schon bei einem Natriumselenitgehalt von 0,03—0,05 Proz. sowohl Coli- wie auch Typhusbacillen, nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37 ° C, nicht mehr zur Entwicklung¹⁾, während sie auf den selenfreien Kontrollplatten ein nicht weniger üppiges Wachstum zeigten als bei neutraler und schwach alkalischer Reaktion des Agars. Auf lackmusneutralem Agar trat bei dem Selenitzusatz von 0,03—0,05 Proz. der entwicklungshemmende Einfluß schon in hohem Grade hervor. Bei gleicher Reaktion des Nährbodens und einem Selenitgehalt von 0,1—0,2 Proz. wurde das Wachstum der meisten Coli-Stämme unterdrückt, während Typhuskolonien noch zur Entwicklung kamen. Um dieselbe Wirkung zu erzielen auf einem Agar von einer Alkalität von 1-proz. Normalsodalösung, war eine Steigerung des Selenalzzusatzes auf 0,4—0,6 Proz. nötig. Die jeweils erforderliche Menge an Natriumselenit schwankt innerhalb gewisser Grenzen, weil der Lackmusneutralpunkt nicht scharf hervortritt und es daher nicht möglich ist, die Nährböden stets auf die gleiche Reaktion einzustellen. Wird Phenolphthalein als Indikator benutzt, so tritt der Umschlag allerdings schärfer hervor, die Verhältnisse gestalten sich dann aber insofern unsicher, als der Abstand zwischen dem Lackmus- und Phenolphthalein-Neutralpunkt durchaus nicht konstant ist, weil ein Teil der in den Nährböden in wechselnder Menge vorhandenen Salze auf die beiden Indikatoren verschieden reagiert. Im allgemeinen verbraucht ein auf Lackmusneutralität eingestellter Extraktagar bis zur Rötung des Phenolphthaleins noch 1,5—2 Proz., durchschnittlich 1,8 Proz. Normalnatron-lauge.

Um für einen lackmusneutralen Agar (der in heißem Zustande, direkt dem Dampftopf entnommen, in der Weise reagiert, daß rotes Lackmuspapier schwach violett gefärbt wird, während das violette Papier

1) Nach Bokorny (10) verhält sich selenigsaures Kalium (das alkalisch reagiert) Spirogyren und Zygnemen gegenüber als sehr schwaches Gift; die entsprechende Menge freier Säure tötet sie innerhalb 3 Stunden ab.

unverändert bleibt oder doch nur eine eben wahrnehmbare Rötung zeigt)¹⁾ diejenige Selenkonzentration, welche die Typhuskolonien noch in ausreichender Weise zur Entwicklung kommen läßt, während sie das Coli-Wachstum möglichst unterdrückt, zu ermitteln, wird zweckmäßig in folgender Weise verfahren: Man löst zunächst 5 g selenigsaures Natrium in 50 ccm destilliertem Wasser und neutralisiert, mittels Lackmuspapiers, durch Normalsalzsäure. Hierzu sind etwa 20 ccm erforderlich. Die auf 100 ccm aufgefüllte Lösung, die also in 1 ccm 0,05 g Natronselenit enthält, wird etwa 15 Minuten im Dampftopf erhitzt und kann, vor Licht geschützt, mehrere Monate aufbewahrt werden, ohne an Wirksamkeit zu verlieren. Je 100 ccm Agar werden mit je 2, 3, 4 und 5 ccm der Selensalzlösung gemischt, die Nährböden, die somit 0,1, 0,15, 0,2 und 0,25 Proz. selenigsaures Natrium enthalten, in Petri-Schalen gegossen und diese mit einer größeren Anzahl von Coli- und Typhusstämmen beimpft. Nach 24-stündiger Brutzeit bei 37° C wird das Ergebnis abgelesen.

Die Wachstumshemmung ist nicht bei allen Stämmen die gleiche; sie schwankt in weiteren Grenzen bei den Coli- als bei den Typhusbacillen. Augenfällige Unterschiede zwischen älteren und frisch isolierten Stämmen habe ich im allgemeinen nicht wahrnehmen können.

Der optimale Selenitzusatz, der im allgemeinen bei 0,15 Proz. lag, scheint, außer durch die Reaktion, auch durch die Beschaffenheit der Bestandteile des Nährbodens, z. B. des Agars, nicht unwesentlich beeinflusst zu werden. Die Ergebnisse einer Reihe von Untersuchungen, bei denen die Nährböden mit verschiedenen Agarsorten hergestellt waren, die aber unter sonst ganz gleichen Verhältnissen ausgeführt wurden, glaube ich auf jenen Umstand zurückführen zu müssen. Wenn allerdings Klett auf einem 0,1 Proz. Natriumselenit enthaltenden Agar, der nach meinen Beobachtungen bei neutraler wie auch alkalischer Reaktion das Wachstum stets hochgradig schädigt, eine Entwicklungshemmung weder bei Coli- noch bei Typhusbacillen festgestellt hat, so vermag ich dies nur durch die Verwendung eines nicht reinen Präparates zu erklären.

Der durch die Bildung von Selenäthyl hervorgerufene merkaptanartige Geruch machte sich auf den Agarkulturen schon nach 24-stündigem Wachstum bemerkbar; die Rotfärbung der Kolonien durch ausgeschiedenes elementares Selen trat erst nach 48 Stunden deutlich hervor.

Auch in neutraler Extraktbouillon wird das Bakterienwachstum durch einen Natriumselenitgehalt von 0,1 Proz. schon stark geschädigt, so daß nach 24-stündiger Brutzeit nur eine ganz leichte Trübung eintritt. Die optimale Selenkonzentration läßt sich hier mit einiger Sicherheit nicht ermitteln. Auch bei einem 10—20-fach höheren Selengehalt der Bouillon tritt eine Abtötung der Bakterien nicht ein; sie bleiben nach dem Uebertragen auf Agar entwicklungsfähig.

Zu vergleichenden Stuhluntersuchungen (s. weiter unten) wurde neben den Selennährböden das zuerst von Loeffler (11) angegebene und von Lentz und Tietz (12 u. 13) weiter ausgearbeitete Malachitgrünverfahren, das sich, nach den vorliegenden Mitteilungen, von den bisher bekannten Methoden am besten bewährt hat, herangezogen.

1) Besonders geeignet ist das von E. Merck in Darmstadt zu beziehende Lackmus-Postpapier. Lackmus-Filtrierpapier ist für die Einstellung von Nährböden nicht brauchbar.

Das Malachitgrün verhält sich in bezug auf die Beeinflussung seiner bakteriziden Kraft durch die Reaktion des Nährbodens gerade entgegengesetzt wie das Natriumselenit. Klinger (14 u. 15) hat zuerst darauf hingewiesen, dass die Höhe des Malachitgrünzusatzes abhängig ist von der Reaktion des Agars. Die Feststellungen von Peabody und Pratt (16) ergaben, daß für jede einzelne Handelssorte des Malachitgrüns die zu verwendende Konzentration der Lösung und das Optimum der Reaktion des Nährbodens bestimmt werden müssen. Die von Schindler (17) ausgeführten eingehenden Untersuchungen haben dies auch für das von ihm verwendete „Malachitgrün extra Höchst“ bestätigt. Dabei zeigte es sich, daß, je alkalischer der Agar ist, um so geringere Mengen des Farbstoffes nötig sind, um bei ausreichendem Wachstum der Typhusbacillen die Coli-Kolonieen zurückzuhalten. Da schon verhältnismäßig geringe Schwankungen in der Reaktion einen deutlichen Rückschlag auf die hemmende Wirkung des Malachitgrüns ausüben, so ist nach Schindler auch bei Verwendung chemisch reiner Präparate die günstigste Konzentration für jeden frisch hergestellten Agar durch Vorversuche mit Coli- und Typhusreinkulturen genau zu ermitteln. Die günstigsten Ergebnisse wurden erzielt bei Benutzung eines Agars von lackmusneutraler und schwach saurer Reaktion, der nach den Angaben von Klinger hergestellte stark alkalische Nährboden erwies sich als weniger wirksam.

Meine Versuche mit „Malachitgrün cryst. chem. rein“ bestätigten diese Angaben. Ich fand auch, in Uebereinstimmung mit Schindler und im Gegensatz zu Fürth (18) und Jorns (19), die allerdings nur 9 bzw. 6 Stämme prüften, daß das Wachstum einzelner Typhusstämmen ganz unterdrückt wird bei Konzentrationen, bei denen andere noch gedeihen. Dieselbe Erfahrung habe ich mit dem Selenagar gemacht. Bei den in gleicher Weise ermittelten günstigsten Zusätzen entwickelten sich die Typhuskolonieen auf den Selennährböden vielfach weniger kräftig als auf dem Malachitgrünagar. Während hier jedoch das Wachstum einer Anzahl von Coli-Stämmen nicht oder nur in ganz geringem Maße beeinflusst wird und manche mit Faeces beschickte Malachitgrünplatten deshalb einen Rasen üppig entwickelter Kolonien aufweisen, wurden durch Natrium-Selenit alle Coli-Stämme stark gehemmt, wenn auch manche, die in der Regel den malachitgrünresistenten entsprechen, in nicht höherem Grade als die widerstandsfähigsten Typhusstämmen. Der Malachitgrünagar muß in sorgfältigster Weise hergestellt werden, wenn man Mißerfolge vermeiden will, über die in der Literatur berichtet wurde, z. B. von Venema (20) und von Neumann (21), die keine Vorzüge gegenüber dem Drigalski- und Endo-Agar, und von Marman (22) sowie von Kathe und Blasius (23), die den Drigalski-Agar sogar überlegen fanden. Wird die jeweils günstigste Farbstoffmenge mit möglichster Genauigkeit vorher festgestellt, so ist es nach den von mir erzielten Ergebnissen (s. Tabelle) außer Zweifel, daß der Nährboden für die elektive Züchtung von Typhusbacillen aus Faeces sehr gute Dienste leistet und dem Endo- wie dem Drigalski-Agar bei weitem überlegen ist.

Von Fischer (24), Grimm (25) und Gaehetgens und Brückner (26), von letzteren auf Grund sehr zahlreicher und eingehender Untersuchungen, wird das Malachitgrünverfahren auch dem Conradi-schen Brillantgrün-Pikrinsäureagar als überlegen bezeichnet¹⁾.

1) Diese Autoren bereiteten den Nährboden nach der Vorschrift von Klinger (der Agar erhielt einen Zusatz von 0,55 Proz. einer 0,5-proz. alkoholischen Malachitgrün-

Um den praktischen Wert der Selennährböden zu erproben, wurde damit, bei gleichzeitiger Verwendung von Malachitgrün- und Endo-Agar, eine größere Anzahl von Stuhluntersuchungen ausgeführt. Dabei wurde folgendermaßen verfahren: Dem auf Lackmusneutralität eingestellten sterilen Agar wurden die durch Vorversuche mit Coli- und Typhusreinkulturen ermittelten optimalen Malachitgrün- bzw. Natriumselenitmengen in Lösung hinzugefügt und, ohne die Nährböden nochmals zu sterilisieren, Platten gegossen. Beim Selenagar, wo eine nicht genaue Dosierung der Zusätze sich, nach meinen Beobachtungen, in geringerem Grade bemerkbar macht als beim Malachitgrünnährboden, habe ich die Vorprüfung, nach einiger Übung, stets nur mit zwei Agarproben, einer von 0,1-proz. und einer solchen von 0,2-proz. Natriumselenitgehalt, ausgeführt und im übrigen durch Schätzung die günstigste Konzentration festgestellt. Bei vergleichenden Stuhluntersuchungen erhielt ich meistens auch befriedigende Ergebnisse, wenn der Gesamtmenge des lackmusneutralen Agars ohne weiteres 1,5 g selenigsaures Natrium — 30 ccm der 5-proz. neutralen Lösung — auf 1 l zugesetzt wurden. Aus den oben angeführten Gründen würden jedoch bei Nachprüfungen zunächst immer genaue Vorversuche ausgeführt werden müssen. Außer dem Selenagar wurde auch eine 0,15-proz. Selenbouillon verwendet, in der Weise hergestellt, daß je 10 ccm in weithalsige Reagenzröhrchen abgefüllter lackmusneutraler Extraktbouillon nach dem Sterilisieren mit je 0,3 ccm der 5-proz. Natriumselenitlösung vermischt wurden.

Die Verarbeitung des Untersuchungsmaterials auf den Agarplatten geschah in der gleichen Weise, wie es von Lentz und Tietz für das Malachitgrünverfahren angegeben ist. Von den, erforderlichenfalls mit Kochsalzlösung verdünnten, Stuhlproben wurden je 2—3 Tropfen auf einer Malachitgrün- und einer Selenagarplatte verrieben. 1—2 Tropfen wurden in der Selenbouillon durch Umschütteln gut verteilt. Eine geringe Stuhlmenge wurde außerdem auf zwei Endo-Platten ausgestrichen¹⁾. Letztere wurden nach 18—20-stündigem Aufenthalt im Brutschrank durchgesehen, die übrigen Platten frühestens nach 24 Stunden mit je 20 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmt und von den Malachitgrünplatten dann 2—3 Oesen, von den Selenplatten, die meistens einen deutlich merkaptanartigen Geruch aufweisen, 2—3 kleine Tropfen mit dem Glasspatel entnommen und auf 2 Endo-Platten fraktioniert übertragen. Aus der Selenbouillon wurde nach 24-stündiger Brutzeit ein Tropfen mit einer kleinen Pipette von der Oberfläche entnommen und in gleicher Weise verarbeitet. Die auf dem Endo-Agar vorhandenen verdächtigen Kolonien wurden durch Kulturen und durch Agglutination identifiziert.

Insgesamt wurden 302 Stuhlproben und 3 Sputa untersucht. Dabei handelte es sich jedoch nicht nur um Stühle von Typhuskranken und Bacillenträgern, sondern in zahlreichen Fällen auch um solche von Typhusverdächtigen, von Rekonvaleszenten und von Personen aus der Um-

lösung und eine Reaktion von 1-proz. Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralpunkt) und erzielten damit sehr gute Ergebnisse. Auf Grund meiner Beobachtungen muß ich trotzdem Schindler darin zustimmen, daß die Leistungsfähigkeit des Malachitgrünverfahrens eine höhere ist, wenn für jeden frisch hergestellten Agar die günstigste Farbstoffmenge zunächst ermittelt wird. Sie ist, auch bei gleicher Einstellung des Agars mittels Phenolphthalein, wechselnd, und ich konnte mehrfach feststellen, daß schon geringe Schwankungen das Typhus- bzw. Coli-Wachstum auffällig beeinflussen.

1) Die verwendeten Platten hatten sämtlich einen Durchmesser von 15 cm. Diese sehr handliche Größe wird hier für Stuhluntersuchung jetzt allgemein benutzt.

Tabelle.

Zeichenerklärung:

- Keine Typhuskolonien.
 + Vereinzelte Typhuskolonien bis etwa 10 Proz. der überhaupt auf der Platte vorhandenen Kolonien.
 ++ Eine größere Anzahl Typhuskolonien, etwa 10–50 Proz. der überhaupt auf der Platte vorhandenen Kolonien.
 +++ Ueberwiegend Typhuskolonien, bis etwa 90 Proz. der überhaupt auf der Platte vorhandenen Kolonien.
 ++++ Ueber 90 Proz. Typhuskolonien.

Stühle		Endo-Agar	Malachit-grünagar	Selen-agar	Selen-bouillon	Stühle		Endo-Agar	Malachit-grünagar	Selen-agar	Selen-bouillon
Lfd. No.	Journ. No.					Lfd. No.	Journ. No.				
1	4	++	+++	+++	++++	43	193	++	+++	—	—
2	5	—	+	—	—	44	197	+	++	—	++
3	8	—	+	+	+	45	198	—	—	—	++
4	9	++	+++	++++	++++	46	202	—	+++	++	++++
5	10	—	—	—	+	47	204	—	++	+++	++
6	12	—	—	—	+	48	209	—	++	++	+
7	18	+	+	++	++	49	210	—	—	+	++
8	20	—	—	—	+++	50	212	—	—	++	—
9	28	+++	++	+++	++++	51	213	—	—	++	+
10	38	—	+	+++	+	52	218	—	—	++	—
11	44	—	++	++++	++++	53	221	++	+++	+	++
12	47	—	—	+	++	54	222	++	+++	++++	+++
13	55	—	++	+	+	55	225	—	—	++	—
14	57	—	—	++	+	56	226	—	—	+	—
15	64	—	++	+++	+++	57	229	++	+++	++++	++
16 ¹⁾	73	—	—	—	++	58	230	+	—	+++	—
17	79	++	++	++++	++++	59	234	—	++	—	++
18	86	++	++	++	+++	60	235	—	+++	+	++
19	89	—	++	++	++++	61	238	—	+	+++	—
20	95	—	—	—	++	62	239	—	—	+++	+
21	114	+	+	++	++	63	240	++	++++	++++	—
22	121	—	+	++	++	64	244	—	—	—	+
23	124	—	++	++++	++	65	248	++	+	+++	++
24	125	—	—	—	+	66	249	+++	+++	++++	++++
25	127	—	—	++	+	67	252	++	+++	++++	++
26	132	—	—	++	+	68	253	—	+	+	+
27	133	+++	+++	++++	++	69	254	++	+	+++	++
28	136	++	++	++	++	70	255	—	++	+++	++
29	138	++++	++++	++++	++++	71	256	—	++	++	+++
30	143	+++	+++	++++	++++	72	257	—	+	+	++
31	148	+	++	++++	++	73	261	++	—	++	+++
32	149	—	—	+	—	74	265	+++	+++	+++	+++
33	158	—	++	++	—	75	267	—	++	+++	+++
34	162	++	++	++	—	76	268	—	++	+++	+
35	165	++	+++	+	—	77	275	—	+	+++	—
36	166	+++	++++	++++	+++	78	279	++	+++	++	++
37	170	+	+++	++++	++	79	283	++	+	++	+
38	171	++++	++++	++++	++++	80	292	+++	+++	+++	—
39	173	—	—	+	—	81	298	—	+	—	—
40	179	+	++++	++++	+++	82	300	++	—	—	—
41	182	+	—	—	—	83	302	+	++	+	++
42	183	++	—	++	+						

gebung von Typhuskranken. Verschiedene Beobachtungen lassen auch die Annahme als berechtigt erscheinen, daß manche Bacillenträger, weil sie Unannehmlichkeiten bei positivem Ausfall der Untersuchung be-

1) Sputum.

fürchteten, nicht ihren eigenen Stuhl, sondern den anderer Personen einlieferten.

In 83 Fällen konnten Typhusbacillen nachgewiesen werden, und zwar, wie aus der Tabelle hervorgeht:

auf dem Endo-Agar direkt	in 38 Fällen
mittels des Malachitgrünagars	„ 57 „
„ „ Selenagars	„ 68 „
„ der Selenbouillon	„ 64 „
„ eines der beiden Selennährböden	„ 78 „
„ beider Selennährböden gleichzeitig	„ 54 „

Der Nachweis von Typhusbacillen gelang:

mittels des Selenagars:	
in 34 Fällen, in denen der Endo-Agar	versagte
„ 16 „ „ „ „ Malachitgrünagar	„
mittels der Selenbouillon:	
in 34 Fällen, in denen der Endo-Agar	versagte
„ 17 „ „ „ „ Malachitgrünagar	„
mittels des Malachitgrünagars:	
in 24 Fällen, in denen der Endo-Agar	versagte
„ 5 „ „ „ „ Selenagar	„
„ 8 „ „ „ „ die Selenbouillon	„
„ 3 „ „ „ „ beide Selennährböden	versagten.

Der Nachweis gelang:

auf dem Endo-Agar	in 2 Fällen	} in denen die übrigen Nährböden versagten
mittels des Malachitgrünagars	„ 2 „	
„ „ Selenagars	„ 13 „	} in denen Malachitgrün- und Endo-Agar ver- sagten
„ der Selenbouillon	„ 13 „	
„ eines der beiden Selennährböden	„ 21 „	

Diese Zusammenstellungen sprechen für die Ueberlegenheit des Selenverfahrens, das meistens ebenfalls in quantitativer Hinsicht, wenn gleichzeitig mittels mehrerer Methoden Typhusbacillen nachgewiesen werden konnten, zu dem günstigsten Ergebnis führte. Auch die Selennährböden erfüllen jedoch keineswegs die Bedingungen, die an eine ideale Methode zu stellen wären. Wie der Malachitgrünagar schädigen sie ebenfalls das Typhuswachstum, gestatten nur die Verarbeitung einer verhältnismäßig geringen Stuhlmenge und sind durchaus nicht spezifisch, da auch eine große Anzahl typhusähnlich wachsender, Milchsucker nicht zersetzender Bakterien nicht in erwünschtem Maße gehemmt werden.

In der letzten Zeit habe ich dem Selenagar stets 1 Proz. einer 0,1-proz. Kristallviolettlösung hinzugefügt. Dieser Zusatz, der das Typhuswachstum nicht in bemerkenswerter Weise beeinflusst, hat sich als vorteilhaft erwiesen. Die Vermutung, daß auf zuckerhaltigen Nährböden schon bei verhältnismäßig geringem Selengehalt das Wachstum der Coli-Kolonien infolge der gebildeten Säure besonders stark geschädigt würde, hat sich nicht bestätigt. Eine gesteigerte Wirkung des Nährbodens konnte bei einem Zusatz von 1 Proz. Glukose oder Laktose nicht festgestellt werden.

Die sehr wechselnden Resultate des Selenbouillonverfahrens sind vermutlich zum Teil darauf zurückzuführen, daß, je nach der Beschaffenheit der Stühle, eine sehr verschieden große Menge freien Selens zur Ausfällung kommt, um so mehr, je alkalischer die Reaktion wird¹⁾. Hierdurch wird ein Teil der Bakterien mit niedergeschlagen und die Selenkonzentration mehr oder weniger stark geändert. Die Einstellung der

1) Durch Hitze sterilisierte Faeces bewirkten keine Selenabscheidung.

Bouillon auf saure Reaktion vermochte das schließliche Ergebnis im allgemeinen nicht zu beeinflussen¹⁾. Es wurde auch versucht, größere Stuhlmengen mittels entsprechend größerer Mengen von Selenbouillon zu verarbeiten, jedoch ohne den erwarteten Erfolg. In manchen Fällen war sogar eine Ueberwucherung der Typhusbacillen durch die Begleitbakterien eingetreten, während das oben angegebene Verfahren zu einem positiven Ergebnis führte.

Die Leistungsfähigkeit der Selennährböden wird sich voraussichtlich noch steigern lassen durch Verwendung von Rindfleischbouillon bzw. des daraus hergestellten Agars, den Schindler bei seinen Nachprüfungen des Malachitgrünverfahrens erheblich wirksamer fand als Extraktagar.

Da ich mich vorläufig mit weiteren Versuchen nicht befassen kann, der Selennährboden aber, trotz der ihm anhaftenden Mängel, ein Fortschritt auf dem Gebiete der Anreicherungsverfahren sein dürfte, so habe ich geglaubt, die Ergebnisse meiner Untersuchungen schon jetzt bekannt geben zu sollen. Von welchem Wert eine Methode sein würde, die mit größerer Wahrscheinlichkeit als die bisherigen die Isolierung von Typhusbacillen aus Stühlen, insbesondere solchen von Rekonvaleszenten und Bacillenträgern, ermöglicht, kann kaum irgendwo so deutlich zutage treten, wie hier, im Südwesten des Reiches, dem Gebiete der systematischen Typhusbekämpfung.

Literaturverzeichnis.

- 1) Gmelin, Chr., Versuche über die Wirkungen des Baryts, Strontians etc. Tübingen 1824.
- 2) Rabuteau, Recherches sur les propriétés et sur l'élimination des composés oxygènes du Sélénium et du Tellure. (Gaz. hebdom. T. 16. 1869. p. 241.)
- 3) Czapek u. Weil, Jos., Ueber die Wirkung des Selens und Tellurs auf den tierischen Organismus. (Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 32. 1893. p. 438.)
- 4) Hofmeister, Fr., Ueber Methylierung im Tierkörper. (Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 33. 1894. p. 198.)
- 5) Maaßen, Die biologischen Methoden Gosios zum Nachweis des Arsens und die Bildung organischer Arsen-, Selen- und Tellurverbindungen durch Sedimentpilze und Bakterien. (Arb. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 18. 1902. p. 475.)
- 6) Chabrie et Lapique, Sur l'action physique de l'acide sélénieux. (Compt. rend. T. 110. 1890. p. 152.)
- 7) Scheurlen, Die Anwendung der tellurigen Säure in der Bakteriologie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 33. 1900. p. 135.)
- 8) Klett, Ad., Zur Kenntnis der reduzierenden Eigenschaften der Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 33. 1900. p. 137.)
- 9) Gosio, B., Indikatoren des Bakterienlebens und ihre praktische Bedeutung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 51. 1905. p. 65.)
- 10) Bokorny, Ueber die physiologische Wirkung der tellurigen Säure. (Chem.-Zeitg. 1893. p. 1598.)
- 11) Loeffler, Der kulturelle Nachweis der Typhusbacillen in den Faeces. (Deutsch. med. Wochenschr. 1903. No. 36. Vereinsbeilage; ebenda. 1906. No. 8 u. 1907. No. 39.)
- 12) Lentz u. Tietz, Eine Anreicherungs-methode für Typhus- und Paratyphusbacillen. (München. med. Wochenschr. 1903. p. 2139.)
- 13) — —, Weitere Mitteilungen über die Anreicherungs-methoden für Typhus- und Paratyphusbacillen mittels einer Vorkultur auf Malachitgrünagar. (Klin. Jahrb. Bd. 14. 1905. p. 494.)
- 14) Klinger, P., Ueber neuere Methoden zum Nachweis des Typhusbacillus in den Darmentleerungen. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 24. 1906. p. 35.)
- 15) — —, Die Untersuchungen der Straßburger bakteriologischen Anstalt für Typhusbe-

1) Peabody und Pratt konnten mit einer Malachitgrünbouillon, die auf einen bestimmten Säuregrad eingestellt war, bessere Resultate erzielen als mit Malachitgrünagar.

- kämpfung in der Zeit vom 1. Oktober 1903 bis 30. September 1905. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amt. Bd. 25. p. 215.)
- 16) Peabody u. Pratt, Ueber den Wert von Malachitgrünnährböden zur Differenzierung von Typhus- und Coli-Bacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1908. p. 550.)
 - 17) Schindler, H., Ueber Malachitgrünnährböden. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 63. 1909. p. 91.)
 - 18) Fürth, E., Ueber den Wert des Leuchasschen Malachitgrünagars zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. p. 81.)
 - 19) Jorns, G., Ueber die Brauchbarkeit des Malachitgrünnähragars zum Nachweis von Typhusbacillen. (Hyg. Rundsch. 1904. p. 713.)
 - 20) Venema, A., Bericht über die Tätigkeit des Untersuchungsamtes für ansteckende Krankheiten zu Halle im Jahre 1906. (Hyg. Rundsch. 1907. p. 771.)
 - 21) Neumann, R. O., Bericht über die Ergebnisse des Untersuchungsamtes für ansteckende Krankheiten in Heidelberg vom Januar bis Dezember 1907. (Hyg. Rundschau. 1908. p. 445.)
 - 22) Marmann, J., Bericht über die Tätigkeit des bakteriologischen Untersuchungsamtes in Göttingen im Jahre 1907/08. (Hyg. Rundsch. 1908. p. 1013.)
 - 23) Kathe u. Blasius, Vergleichende Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit älterer und neuerer Typhusnährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909. p. 586.)
 - 24) Konferenz der Leiter der Typhusuntersuchungsanstalten am 23. Okt. 1909 in Landau in der Pfalz.
 - 25) Grimm, Ueber den praktischen Wert einiger neuer Typhusnährböden. (Hyg. Rundsch. 1909. p. 813.)
 - 26) Gaetgens u. Brückner, Vergleichende Untersuchungen über einige neuere Typhusnährböden und Erfahrungen über den Wert der Agglutination, Blutkultur und Stuhlzüchtung für die Diagnose des Abdominaltyphus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 53. p. 559.)

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klischées — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

- | | |
|--|---|
| <p>Buday, K., Endemisch auftretende Leberabszesse bei Verwundeten, verursacht durch einen anaëroben Bacillus, p. 453.</p> <p>Fuhrmann, O., Eine in <i>Geoplanea</i> parasitierende Gregarine, p. 482.</p> <p>Guth, F., Selennährböden für die elektive Züchtung von Typhusbacillen, p. 487.</p> <p>v. Hövell, Hermann, Ueber eine neue Gruppe typhusähnlicher, farbstoffbildender Bakterien, p. 449.</p> | <p>Mac Callum, G. A., <i>Acanthocotyle bothi</i> n. sp., p. 486.</p> <p>Pfeiler, W., und Roepke, E., Ueber das Auftreten von Rotlauf- bzw. Murisepticus-Bacillen in zur Feststellung der Rotlaufkrankheit eingesandten Schweineorganen, sowie bei gesunden Schlachtschweinen. Zugleich ein weiterer Beitrag zur Präzipitinogendiagnose des Rotlaufs, p. 469.</p> |
|--|---|

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 77 enthaltenen Arbeiten.

- Acél, D., Ueber Kongorot-Nährböden. 204
Baerthlein, Karl, Beitrag zur Frage der Paragglutination. 272
Ball, Oskar, Untersuchungen über die Veränderlichkeit von Choleravibrionen. 234
Buday, K., Endemisch auftretende Leberabszesse bei Verwundeten, verursacht durch einen anaëroben Bacillus. 453
Bujwid, Odo, Differenzierung von Bakterienkulturen mit H_2O_2 . 440
—, Eine neue Methode der Bestimmung von Bakterienmengen. 286
Busla, Vladimir, Ein thermolabiler „syphilitischer Immunkörper“. Modifikation der Technik der Wassermannschen Reaktion. 279
Carini, A., Ueber die Hundekrankheit Nambi-uvu und ihren Parasiten, *Rangelia vitalii*. 265
—, und Mael, J., Ueber *Pneumocystis Carinii*. 46
Castellani, Aldo, Further Researches on combined Vaccines. 63
Chang Chia-pin, Ueber das agglutinatorische Verhalten der Sera von gesunden (bzw. nicht an Typhus oder Paratyphus leidenden) Chinesen gegenüber Typhus- und Paratyphusbacillen. 435
Fischer, Albert, Untersuchungen über die Darmflora beim gesunden Ochsen. 6
Fraenkel, Eugen, Erwiderung auf die Bemerkungen Prof. Dr. G. Pommers zu meiner Arbeit: „Ueber malignes Oedem“. 367
Friedmann, Alexander, Beiträge zur Bekämpfung der Kleiderläuse in Kleidern. [Nebst] Anhang: Zur mikroskopischen Anatomie von *Ped. vestimentorum*, von Prof. Dr. Kiskalt. 320
—, Ein flammenloser, versendbarer Brutschrank. 364
Fuhrmann, O., Eine in *Geoplanea* parasitierende Gregarine. 482
Galli-Valerio, B., Erfahrungen über den Schutz gegen den Läusestich. 262
Geilinger H., Notiz zur Frage der Verwendbarkeit des Pferdefleischagars für die Bakteriendiagnostik. 446
Gregersen, J. P., Untersuchungen über die desinfizierende Kraft der desinfizierenden Stoffe im Verhältnis zu ihrer Konzentration. 168
—, Untersuchungen über die antiseptische Wirkung des Magensaftes. 353
Gruber, Georg B., Ueber die durch Infektion mit Bakterien der Typhusgruppe in der Leber bedingten knötchenförmigen Nekroseherde (sogenannten „miliaren Lymphome“). 301
Guggenheimer, Rudolf, Hefenwasserpeptonagar als Ersatz für Fleischwasserpeptonagar. 363
Guth, G., Selennährböden für die elektive Züchtung von Typhusbacillen. 487
Hase, Albrecht, Weitere Beobachtungen über die Läuseplage. 153
v. Hövell, Hermann, Ueber eine neue Gruppe typhusähnlicher, farbstoffbildender Bakterien. 449
Ickert, Franz, Ueber eine Fleischvergiftungsepidemie durch Bacillen der Gärtnergruppe (*Rattenschädlinge*). 142
Kindborg, E., Verbesserter Säurefuchsinagar zur Typhus- und Ruhrdiagnose. 442
Kiskalt s. Friedmann, Alexander.
Kleine, F., Versuche zur Vertilgung von Zieselmäusen mittels Ratin. 165
Konrád, Daniel, Ueber den Wert der Choleraschutzimpfungen. 339
Kostrzewski, J., Ein akuter Malleusfall beim Menschen mit positiver Blutkultur. 418
Lehmann, Ernst, Bakterienmutationen. Allogonie. Klonumbildungen. 289
Lichtenstein, Stefanie, Ueber die Herstellung des Blutnährbodens. 362
Löfl, K., Plasma-Nährstoff für Massenkulturen. 108
Luft, M., Ueber eine Rückfallfieberepidemie. 425
Mac Callum, G. A., *Acanthocotyle bothi* n. sp. 486
Mael, J. s. Carini, A.
Maggio, C., und Rosenbusch, F., Studien über die Chagaskrankheit in Argentinien und die Trypanosomen der „Vinchucas“ (*Wanzen, Triatoma infestans* Klug). 40
Maresch, Rudolf, Zur Kenntnis der durch fusiforme Bacillen bedingten pyämischen Prozesse. 130
Markl, J. G., Ueber Säureagglutination von Pestbacillen. 102
Markoff, Wl. N., Putride, durch einen bisher unbekannten Anaërobier, *Bacillus anaërobius haemolysans*, verursachte Mundinfektion. 421
Minder, Leo, Ueber morphologische und tinktorielle Besonderheiten bei Tuberkel-

- bacillen vom Typus gallinaceus, unter
 spezieller Berücksichtigung der Granula. 113
Nachmann, Gertrud, Die Differenzierung
 der Pneumokokken und Streptokokken
 durch Optochin. 198
Papamarku, Beiträge zur Serodiagnostik
 des Fleckfiebers. 186
Pfeiler, W., und Roepke, E., Ueber das
 Auftreten von Rotlauf- bzw. Murisepti-
 cus-Bacillen in zur Feststellung der
 Rotlaufkrankheit eingesandten Schweine-
 organen, sowie bei gesunden Schlacht-
 schweinen. Zugleich ein weiterer Beitrag
 zur Präzipitinogendiagnose des Rotlaufs. 469
Pommer, Gustav, Antwort auf die Er-
 widerung Prof. Dr. E. Fraenkels in
 Heft 4. Bd. 77 dieses Centralblattes. 420
 —, Bemerkungen zu Eugen Fraenkels
 Arbeit: „Ueber malignes Oedem“, in:
 Beiträge z. Klinik d. Infektionskrankh.
 und zur Immunitätsforsch. 1914. p. 129
 —152. Taf. XIII—XV. Würzburg (Curt
 Kabitzsch) 1914. 249
Preis, Hugo, Untersuchungen über die
 Wirkungsweise des Antipneumokokken-
 serums. 89
Rautmann, H., Untersuchungen über den
 Desinfektionswert stark bewegter, trocke-
 ner Heißluft. 50
Roček, Josef, Ueber die Wirkung des In-
 dols auf Typhusbacillenkulturen als
 Grundlage für therapeutische Versuche. 100
Roepke, E. s. Pfeiler, W.
Rosenbusch, F. s. Maggio, C.
Salus, Gottlieb, Ueber anaerobe Strepto-
 kokken. 1
Saul, E., Untersuchungen zur Aetiologie
 und Biologie der Tumoren. XIX. Mit-
 teilung. (Die Morphologie der Coccidi-
 ose. — Das übertragbare Hühnersarkom.
 — Das Riesenzellengranulom.) 255
Schmitz, K. E. F., Die Verwandlungs-
 fähigkeit der Bakterien. Experimen-
 telles und Kritisches mit besonderer Be-
 rücksichtigung der Diphtheriebacillen-
 gruppe. 369
Sikora, H., Bemerkungen zu der Arbeit:
 „Zur Bekämpfung der Kleiderläuse“ von
 Dr. A. Zucker in Heft 4. Bd. 76 dieser
 Zeitschrift. 163
Szász, Alfred, Ein einfaches Verfahren
 zur Bouillonbereitung aus Blutkuchen. 111
Thaysen, A. C. s. Thöni, J.
Thöni, J., und Thaysen, A. C., Experi-
 mentelle Untersuchungen zur Feststel-
 lung der Mindestzahl von Bacillen, die
 beim Meerschweinchen noch Tuberkulose
 hervorruft. 208
Tillgren, J., Studien über Pneumokokken-
 Immunität. II. Mitteilung. Immun-
 serum und Leukocyten. 74
 —, Studien über Pneumokokken-Immuni-
 tät. III. Mitteilung. 84
Wollin, Hans, Ueber die Brauchbarkeit
 des normalen Drigalski-Conradi-Agar
 für die Dysenteriediagnose. 283
 —, Ueber das Wachstum von Coli-Bak-
 terien auf Lackmusmannitagar. 284
Zettinow, E., Einige neue Bakterien. 209

II. Sachverzeichnis.

- | | | | |
|---|--------|---|------------|
| Abzesse, Leber-, endemische, bei Ver-
wundeten. | 453 | Agglutination, Säure-, des Bac. pseudotuber-
cul. rodentium. | 106 |
| Acanthocotyle bothi n. sp., Beschreibung. | 486 | Alineu-Salbe gegen Läuse. | 156 |
| Acethylengas gegen Läuse. | 156 | Alkohol, Wirkung auf Staphylococc. pyog.
aureus. | 182 |
| Actinomyces albus im Darne des Kalbes. | 18. 20 | Allogonie bei Bakterien. | 299 |
| — — — — des Ochsen. | 12 | Ammoniak gegen Läuse. | 156 |
| — — im Magen des Kalbes. | 15 | Anisfrüchte gegen Läuse. | 156 |
| — — — — des Ochsen. | 11 | Anisöl + Baumöl gegen Läuse. | 156 |
| — chromogenes im Darne des Kalbes. | 20 | — + Gleitpuder gegen Läuse. | 156 |
| — —, Farbstoffbildung. | 447 | — gegen Läuse. | 156. 263 |
| Adenom und Coccidien. | 256 | — + Petroleum gegen Läuse. | 156 |
| Aetherische Oele gegen Läuse. | 155 | Anisol + Formol + Fenchelöl + Anisöl
s. Feldgrau. | 156 |
| Aethrol für Krankenzimmer gegen Läuse. | 263 | — gegen Läuse. | 157 |
| Agglutination des Bac. paratyphi bei Chi-
nesen. | 435 | — Läuse-Hilfe Queissers. | 156 |
| — — typhi bei Chinesen. | 435 | Antikotin gegen Läuse. | 156 |
| —, Par- s. Paragglutination. | | Antiparasiticum gegen Läuse. | 156 |
| —, Säure-, des Bac. pestis. | 102 | Antipneumococcus-Serum und Phago-
cytose. | 89 |
| | | —, Wirkungsweise. | 77. 86. 89 |

- Antipol gegen Läuse. 156
 Apparat, Entseuchungs-. 52
 Argentinien, Chagaskrankheit. 40
 Arsenige Säure + Tabakwasser gegen Läuse. 156
 Asa foetida gegen Läuse. 156
 Aspergillus, Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 328
 Bacillus s. a. Bacterium.
 — acidi lactici im Darne. 8
 — acidophilus im Darne. 7
 — alcaligenes, Wachstum auf Fleischagar. 447
 —, anaërober, Ursache von Leberabzessen bei Verwundeten. 453
 — anaërobius haemolysans n. sp., Eigenschaften, Ursache einer putriden Mundinfektion. 421
 — anthracis s. a. Milzbrand.
 — —, Wasserstoffsuperoxydspaltung. 440
 — —, Wirkung von Heißluft, trockener, stark bewegter. 59
 — asiaticus, Immunisierung gegen dens. 70
 — bifidus im Darne. 7
 — coli im Darne. 7
 — — — — des Kalbes. 18
 — — — — des Ochsens. 11
 — —, Differentialdiagnose von Bac. typhi mit Kongorot. 204
 — — im Magen des Kalbes. 15
 — — — — des Ochsens. 11
 — —, Wachstum auf Lackmusmannitagar. 284
 — —, Wachstumshemmung durch Selen. 489
 — —, Wasserstoffsuperoxydspaltung. 440
 — —, Wirkung von Indol. 100
 — —, Wirkung von Salzsäure. 172. 359
 — — anaërogenes im Darne des Kalbes. 18
 — — mutabilis, Paragglutination. 276
 — columbensis, Immunisierung gegen denselben. 70
 — diphtheriae, Beziehung zu Pseudodiphtheriebacillen. 409
 — —, Komplementablenkung. 404
 — —, Umformung. 374
 — —, Wasserstoffsuperoxydspaltung. 440
 — dysenterie s. a. Ruhr.
 — —, Anreicherung. 283
 — —, Nachweis mittels Säurefuchsinagars Kindborg. 442
 — —, Wachstum auf Fleischagar. 447
 — —, Wirkung von Indol. 100
 — enteritidis Gärtner, Fleischvergiftung, Ursache derselben. 142
 — — Gärtner-Gruppe, Fleischvergiftungen, Ursache derselben. 142
 — — Gärtner, Pathogenität für Ratten. 148
 — — — —, Wirkung von Salzsäure. 173. 359
 — fluorescens liquefaciens im Darne des Kalbes. 18
 — — — — im Magen des Kalbes. 17
 — fusiformis, pyämische Prozesse, Ursache derselben. 130
 Bacillus Güntheri im Magen des Kalbes. 16
 — lactis aërogenes im Darne des Kalbes. 19
 — — — — — des Ochsens. 14
 — mallei s. a. Rotz.
 — —, Nachweis im Blute. 418
 — megatherium im Darne des Kalbes. 19
 — — — — des Ochsens. 14
 — — im Magen des Ochsens. 11
 — mesentericus im Darne des Kalbes. 18
 — — — — des Ochsens. 12
 — — im Magen des Kalbes. 15
 — — fuscus im Darne des Ochsens. 14
 — — — — im Magen des Kalbes. 16
 — — ruber im Darne des Ochsens. 12
 — — vulgaris im Magen des Ochsens. 11
 — murisepticus in Schweineorganen. 469
 — mycoides im Darne des Kalbes. 18
 — — — — des Ochsens. 12
 — — im Magen des Kalbes. 17
 — — — — des Ochsens. 11
 — paracoli anindolicus im Darne des Ochsens. 11
 — paratyphi s. a. Paratyphus.
 — —, Agglutination bei Chinesen. 435
 — —, Lebernekroseherde, Ursache derselben. 303
 — —, Wasserstoffsuperoxydspaltung. 440
 — —, Wirkung von Salzsäure. 173. 359
 — pestis s. a. Pest.
 — —, Säureagglutination. 102
 — —, Wasserstoffsuperoxydspaltung. 440
 — prodigiosus, Farbstoffbildung. 447
 — —, Wirkung von Phenol. 172
 — —, Wirkung von Salzsäure. 174. 359
 — pseudodiphtheriae, Beziehung zu Diphtheriebacillen. 409
 — pseudotuberculosis rodentium, Säureagglutination. 106
 — putrificus coli im Darne. 8
 —, Rotlauf-, in Schweineorganen. 469
 — subtilis im Darne. 8
 — — — — des Kalbes. 18
 — — — — des Ochsens. 12
 — — im Magen des Kalbes. 15
 — — — — des Ochsens. 11
 — —, Wasserstoffsuperoxydspaltung. 440
 — tuberculosis s. a. Tuberkulose.
 — —, Färbung. 116
 — —, Granula. 114
 — —, granuläre Form. 114
 — —, Mindestzahl, die beim Meerschweinchen noch Tuberkulose hervorruft. 308
 — —, Morphologie. 114
 — —, Sporen. 114
 — — der Vögel s. Bac. tuberculosis gallinaceus.
 — — gallinaceus, Färbung. 118
 — — — —, Granula. 117
 — — — —, Kulturelles. 117
 — — — —, Morphologie. 117
 — — — —, Sporen. 124
 — tumescens im Darne des Ochsens. 12
 — —, Morphologie. 210
 — typhi s. a. Typhus abdominalis.
 — — ähnlicher, farbstoffbildender. 449

Bacillus typhi , Agglutination bei Chinesen.	435	Bakterien , Wirkung von Chloralhydrat.	181
— —, Anreicherung durch Selenährböden.	487	—, Wirkung von Desinfizientien.	168
— —, Differentialdiagnose von <i>Bac. coli</i> mit Kongorot.	204	—, Wirkung von Formaldehyd.	178
— — -Gruppe, Lebernekroseherde, Ursache derselben.	301	—, Wirkung von Heißluft, trockener, bewegter.	50. 59
— —, Nachweis mittels Säurefuchsinagars Kindborg.	442	—, Wirkung von Indol.	100
— —, Wachstum auf Fleischagar.	447	—, Wirkung von Jod-Jodkalium.	178
— —, Wasserstoffsuperoxydspaltung.	441	—, Wirkung von Magensaft.	353
— —, Wirkung von Heißluft, trockener stark bewegter.	59	—, Wirkung von Optochin.	198
— —, Wirkung von Indol.	100	—, Wirkung von Phenol.	172
— —, Wirkung von Salzsäure.	175. 359	—, Wirkung von Salzsäure.	172. 359
— Zopfii, Wachstum auf Fleischagar.	447	—, Wirkung von Sublimat.	172
Bacterium s. a. Bacillus.		—, Wirkung von Thymol.	180
— <i>chrysogloea</i> , Wachstum auf Fleischagar.	447	Baumöl + Anisöl gegen Läuse.	156
— <i>erythrogenes</i> , Wachstum auf Fleischagar.	447	Benzol gegen Läuse.	156
— <i>fulvum</i> , Wachstum auf Fleischagar.	447	Bergamottöl gegen Läuse.	156. 263
— <i>Güntheri</i> im Darne des Ochsen.	14	Birkenholztee gegen Läuse.	156. 157
— im Magen des Ochsen.	11	Blättermagen, Bakterien in demselben beim Kalbe.	17
— <i>latericium</i> , Farbstoffbildung.	447	— — — beim Ochsen.	11
— <i>punctans flavum</i> n. sp., Eigenschaften.	231	Blattan-Kresolpuder gegen Läuse.	156
— — <i>sulfureum</i> n. sp., Eigenschaften.	222	Blinddarm, Bakterienflora in demselben beim Kalbe.	19
— <i>putidum</i> , Wachstum auf Fleischagar.	447	— — — beim Ochsen.	13
— <i>racemosum</i> n. sp., Kulturelles.	214	Blut-Kuchen zur Bouillonbereitung.	111
— —, Morphologie.	212	— — zur Nährbodenbereitung.	111
— <i>spumosum</i> , Wachstum auf Fleischagar.	447	— -Nährboden, Herstellung.	362
— <i>turcosum</i> , Wachstum auf Fleischagar.	447	— -Pest s. Nambi-uvu.	
Bakterien , Allogonie.	299	— -Plasma-Nährstoff für Massenkulturen.	107
—, <i>anaërobe</i> , Kultur.	4	Blutendes Ohr s. Nambi-uvu.	
—, Diagnose mittels Pferdefleischagars	446	<i>Bothus maculatus</i> , <i>Acanthocotyle bothi</i> in demselben.	486
—, Differenzierung mittels Wasserstoffsuperoxyds.	440	Bouillon aus Blutkuchen.	111
—, Erd-, im Darne des Ochsen.	14	Brutschrank, flammenloser, versendbarer.	364
— —, im Magen des Kalbes.	15	Cajeputöl gegen Läuse.	156. 263
— —, im Magen des Ochsen.	11	Calmusöl gegen Läuse.	263
— -Flora des Darmes des Kalbes.	17	Calmustinktur gegen Läuse.	156
— — — — und Nahrung.	9. 22	Cardolin gegen Läuse.	156
— — — — beim gesunden Ochsen.	6	Chagaskrankheit.	40
— — des Magens des Kalbes.	15	Chinesen, agglutinatorisches Verhalten der Sera gegenüber Typhus- und Paratyphusbacillen.	435
— — — — des Ochsen.	11	Chloralhydrat, Wirkung auf <i>Staphylococcus pyog. aureus</i> .	181
— <i>fusiforme</i> s. <i>Bacillus fusiformis</i> .		Chloroform gegen Läuse.	156
—, Katalasebildung.	440	Chlorotan gegen Läuse.	156
—, Klonumbildungen.	295	Cholera asiatica s. a. <i>Vibrio cholerae</i> .	
— und Leben.	7	— —, Immunisierung, Wert.	339
—, Mengebestimmung.	286	— —, Vaccination.	64
—, Milchsäure-, im Magen beim Kalbe.	16	— —, —, Wert.	339
—, Modifikation.	296	Chorionepitheliom, Aetiologie.	255
—, Mutation.	235. 289. 416	Cinol gegen Läuse.	156
—, typhusähnliche, farbstoffbildende.	449	Coccidien und Adenome.	256
—, Variation.	234	Coccidiose der Leber bei Kaninchen.	257
— und Verdauung.	7	Coecum s. Blinddarm.	
—, Vererbung.	290	Conradi-Drigalski-Agar zur Ruhrdiagnose.	283
—, Verwandlungsfähigkeit.	369	<i>Corynebacterium mallei</i> s. <i>Bacillus mallei</i> .	156
—, Wasser-, s. Wasserbakterien.		Current gegen Läuse.	156
—, Wirkung von Alkohol.	182	<i>Cysticercus fasciolaris</i> und Sarkom.	258
		Dalmatin gegen Läuse.	156
		Dampf-Desinfektion.	51
		—, Wasser- s. Wasserdampf.	
		Darm, Bakterienflora.	7

- Darm, Bakterienflora bei Kälbern. 17
 —, — und Nahrung. 9. 22
 —, — beim gesunden Ochsen. 6
 —, Blind- s. Blinddarm.
 —, Dick- s. Dickdarm.
 —, Dünn- s. Dünndarm.
 —, Mast- s. Mastdarm.
 Desinfektion, Dampf-. 51
 — mit Heißluft, trockener stark be-
 wegter. 50
 — durch Magensaft. 353
 Desinfektionsapparat, Heißluft-. 52
 Desinfizientien, Wirkung und Konzen-
 tration. 168
 Dickdarm, Bakterienflora in demselben
 beim Ochsen. 13
 Diphtherie s. *Bacillus diphtheriae*.
Diplococcus citreus liquefaciens im Darne
 des Ochsen. 13
 — *lactis acidii*, Wasserstoffsperoxydspal-
 tung. 441
 Diplokokken im Darne des Kalbes. 20
 Diplostreptokokken im Magen des Kalbes.
 16
 Diskretol-Helios gegen Läuse. 156
 Drigalski-Conradi-Agar zur Ruhrdiagnose.
 283
 Dünndarm, Bakterienflora in demselben
 beim Kalbe. 17
 —, — — — beim Ochsen. 11
 Dysenterie s. Ruhr, bakterielle.
 Eau de Cologne-Deciäthrol gegen Läuse.
 263
 Eiterung, pyämische, durch fusiforme Bak-
 terien verursacht. 130
 —, durch *Streptococcus putridus* verur-
 sacht. 2
 Emro gegen Läuse. 156
 Endlich gegen Läuse. 156
 Entlausung mit Heißluft. 53
 Entseuchungsapparat. 52
 Epitheliome, Aetiologie. 255
 Erdbakterien im Darne des Ochsen. 14
 — im Magen des Kalbes. 15
 — — — des Ochsen. 11
 Essigsäure gegen Läuse. 156
 Eukalyptus-Aethrol gegen Läuse. 263
 — -Öl gegen Läuse. 156. 263
 Färbung des *Bacillus tuberculosis*. 116
 Farbstoff, Bildung durch *Bacillus typhi-*
ähnlichen. 449
 Feldgrau gegen Läuse. 156
 Fenchelfrüchte gegen Läuse. 156
 Fenchelöl + Anisöl gegen Läuse. 156
 — gegen Läuse. 156
 Fett-Imprägnation gegen Läuse. 156
 Fleckfieber s. *Typhus exanthematicus*.
 Fleischagar, Pferde-, zur Bakteriendiag-
 nostik. 446
 —, Rind-, zur Bakteriendiagnostik. 446
 Fleischvergiftung, durch Bacillen der Gärt-
 ner-Gruppe verursacht. 142
 Fleischwasserpeptonagar, ersetzt durch
 Hefenwasserpeptonagar. 363
 Flieder-Aethrol gegen Läuse. 263
 Formaldehyd gegen Läuse. 156
 Formaldehyd, Wirkung auf *Staphylococc.*
pyog. aureus. 178
 „Fort ist die Laus“ gegen Läuse. 156
Fructus piperis nigri pulv. + Gleitpuder
 gegen Läuse. 156
 — *Sabadillae* + Gleitpuder gegen Läuse.
 157
 „Futsch“ gegen Läuse. 156
 Gastritis, durch Bacillen der Gärtner-
 Gruppe verursacht. 143
 Gastroenteritis, durch Bacillen der Gärtner-
 Gruppe verursacht. 143
Gaultheria-Öl gegen Läuse. 156
 Gelbfieber der Hunde s. *Nambi-uvu*.
 Genenlehre. 290
 Genovariationen bei Diphtheriebacillen. 416
Geoplane, Gregarine als Parasit. 482
 Geschwülste, Aetiologie und Biologie. 255
 —, —, Rolle mechanischer Reize. 260
 — und Hoden. 262
 — und Hypophysis cerebri. 262
 — bei Pflanzen, Aetiologie. 261
 Gleitpuder + Anisöl gegen Läuse. 156
 — + *Fructus piperis nigri* pulv. gegen
 Läuse. 156
 — + *Fructus Sabadillae* gegen Läuse.
 157
 — + Terpentinöl gegen Läuse. 157
 Globol s. *Paradichlorbenzol*.
 Goldgeist gegen Läuse. 157
 Goldspiritus gegen Läuse. 157
 Gonorrhoe s. *Micrococcus gonococcus*.
 Granulom, Riesenzellen-, und Kieselgur-
 erde. 261
 Graue Salbe gegen Läuse. 157
 Gregarine, in *Geoplane* parasitierend. 482
 Guajakol gegen Läuse. 263
 Guter Kamerad gegen Läuse. 157
 Hämolyse durch *Streptococcus putridus*. 2
 Hefen im Magen beim Kalbe. 17
 Hefenwasserpeptonagar als Ersatz für
 Fleischwasserpeptonagar. 363
 Heißluft, trockene stark bewegte, Des-
 infektionswert. 50
 —, — — —, zur Entlausung. 53
 Heliotrop-Deciäthrol gegen Läuse. 263
 Heugeruch gegen Läuse. 157
 Hoden und Geschwülste. 262
 Holzeisig gegen Läuse. 157
 Hotehi gegen Läuse. 157
 Hühner-Sarkom, Aetiologie. 256. 259
 Hunde, *Nambi-uvu* s. *Nambi-uvu*.
 Hydrargyrum s. a. Quecksilber.
 — cum *Creta* gegen Läuse. 157
 Hypophysis cerebri und Geschwülste. 262
 Immunisierung s. a. Vaccination.
 — gegen Cholera, Wert. 339
 —, kombinierte, gegen Cholera und Pest.
 64
 —, —, gegen mehrere Infektionskrank-
 heiten. 63
 —, —, gegen Ruhr, Typhus und Para-
 typhus. 72
 —, —, gegen Typhus und Maltafieber. 68
 —, —, gegen Typhus und Paratyphus. 63

Immunisierung, kombinierte, gegen Typhus, Paratyphus, Bac. columbensis und Bac. asiaticus.	70	Komplementbindung Wassermann zur Syphilisdiagnose, Modifikation.	279
—, —, gegen Typhus, Paratyphus und Maltafieber.	68	— bei Typhus exanthem.	187
—, —, gegen Typhus, Paratyphus, Maltafieber, Bac. columbensis und Bac. asiaticus.	70	Kongorot-Nährboden zur Differenzierung von Bac. typhi und Bac. coli.	204
—, —, gegen Typhus, Paratyphus, Pest und Cholera.	64	Kopfgeist gegen Läuse.	157
— gegen Pneumococcus-Infektionen.	74. 84. 89	Kossaklo gegen Läuse.	157
Immunität gegen Läusestiche.	154	Krebs, Aetiologie.	255
—, Pneumococcus- und Leukocyten.	74. 84	Kresolmethyläther gegen Läuse.	157
Immunkörper im Pneumonieserum.	87	Kresolpuder gegen Läuse.	157
—, syphilitischer thermolabiler.	279	Kresolseifenlösung gegen Läuse.	157
Indol, gegen Typhus abdominalis.	101	Kümmelöl gegen Läuse.	157
—, Wirkung auf Bac. coli.	100	Kulturen, Massen-, Plasmanährstoff für dieselben.	107
—, Wirkung auf Bac. dysenteriae.	100	Labmagen, Bakterien in demselben beim Kalbe.	17
—, Wirkung auf Bac. typhi.	100	—, — — — beim Ochsen.	11
—, Wirkung auf Vibrio cholerae.	100	Lackmusmannitagar, Wachstum von Coli-Bakterien auf demselben.	284
Insecticidium gegen Läuse.	157	Läuse, Bekämpfung. 53. 155. 163. 262. 320	
Insectol L. gegen Läuse.	157	— -Dynamit gegen Läuse.	157
Insektenpulver gegen Läuse. 156. 263. 324		— und Kleiderstoffe.	325
Jocko gegen Läuse.	157	— -Panzer gegen Läuse.	157
Jod-Jodkalium, Wirkung auf Staphylococc. pyog. aureus.	178	— -Plage.	153
Jodoform gegen Läuse.	157	—, Schutz gegen dieselben.	155
Isaria-Puder gegen Läuse.	157	— -Stiche, Gewöhnung an dieselben.	153
Juca-Juca gegen Läuse.	157	—, Schutz gegen dieselben.	262
Juckenicht gegen Läuse.	157	— -Tod-Tinktur Riedels.	157
Jucksin gegen Läuse.	157	—, Wirkung von Heißluft, trockener.	53. 324
Kälber, Bakterienflora des Darmes.	17	—, Wirkung von Insektenpulver.	324
—, — des Magens.	15	—, Wirkung von Schwefelkohlenstoff.	157. 328
Kamerad, Guter, gegen Läuse.	157	—, Wirkung von schwefliger Säure.	157. 333
Kampfer gegen Läuse.	157. 263	—, Wirkung von Wasserdampf, heißem.	322
— + Fenchelöl gegen Läuse.	157	Lausetot gegen Läuse.	157
— + Naphthalin gegen Läuse.	157	Lausin gegen Läuse.	157
Kampferöl gegen Läuse.	157	Lausofan gegen Läuse.	157
Kampfersalbe gegen Läuse.	263	Lausol gegen Läuse.	157
Kaninchen, Coccidiose der Leber.	257	Lausweg gegen Läuse.	157
Katalase, Bildung durch Bakterien.	440	Lavendelöl gegen Läuse.	157. 263
Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds zur Bakterien differenzierung.	440	Leben und Bakterien.	7
Kieselgurerde und Riesenzellengranulom.	261	Leber-Abszesse, endemische, bei Verwundeten.	453
Kindborgs Säurefuchsinagar zur Typhus- und Ruhrdiagnose.	442	— -Coccidiose bei Kaninchen.	257
Kinder, Chagaskrankheit.	40	— -Lymphome, miliare, durch Bac. typhi-Gruppe verursacht.	301
Kleider, Bekämpfung der Kleiderläuse in denselben.	320	—, Nekroseherde, durch Bac. paratyphi verursacht.	303
Kleiderlaus s. a. Läuse.		—, —, durch Bac. typhi-Gruppe verursacht.	301
—, Anatomie.	163. 338	—, Pseudotuberkel.	301
—, Bekämpfung.	155. 167. 320	Leucasolpuder gegen Läuse.	157
—, Biologie.	164	Leuchtgas gegen Läuse.	157
— und Kleiderstoffe.	325	Leukocyten und Pneumococcus-Immunität.	74. 84
Kleiderstoffe und Läuse.	325	Lorbeeröl gegen Läuse.	157
Klonumbildungen.	295	Luft, heiße stark bewegte, Desinfektionswert.	50
Knick-Knack gegen Läuse.	157	—, heiße trockene, zur Entlausung.	53. 324
Knix gegen Läuse.	157	Lungen, Pneumocystis carinii in denselben.	46
Koffein-Kongorot zur Differenzierung von Bac. typhi und Bac. coli.	205	Lymphome, miliare, der Leber, durch Bac. typhi-Gruppe verursacht.	301
Kollodiumsäckchen, Herstellung.	393		
Komplementbindung mit Bac. diphtheriae.	404		
— bei Typhus exanthem.	187		

- Magen, Bakterienflora bei Kälbern. 15
 —, — bei Ochsen. 11
 —, Pansen s. Pansen.
 Magensaft, antiseptische Wirkung. 353
 —, Wirkung auf *Staphylococcus pyog.*
 aureus. 356
 Malaria, mit Rückfallfieber verbunden. 426
 Malleus s. Rotz u. a. *Bac. mallei*.
 Maltafieber, Vaccination gegen dasselbe.
 68
 Massenkulturen, Plasmanährstoff für die-
 selben. 107
 Mastdarm, Bakterienflora in demselben
 beim Kalbe. 20
 —, — — beim Ochsen. 14
 Mechanol gegen Läuse. 157
 Meerschweinchen, Mindestzahl von Tu-
 berkelbacillen, die Tuberkulose hervor-
 ruft. 308
 Mendelsche Genenlehre. 290
 Meningococcus, Wirkung von Optochin.
 202
 Menchen, Rotz mit positiver Blutkultur.
 418
 Menthol gegen Läuse. 157
 Mercolinschurz gegen Läuse. 157
 Methylphenyläther s. Anisol.
 Micrococcus albocereus im Darne beim
 Kalbe. 22
 — *candicans* im Darne beim Ochsen. 13
 — — im Magen beim Kalbe. 16
 — *catarrhalis*, Wirkung von Optochin. 202
 — *citrinus* s. *Diplococcus citreus lique-*
 faciens.
 — *cyclops* im Magen beim Kalbe. 15
 — *gonococcus*, Wirkung von Optochin. 202
 — *lacticus* im Darne des Ochsen. 13
 — *prodigiosus*, Wirkung von Schwefel-
 kohlenstoff. 328
 — *pyogenes albus* im Darne des Ochsen.
 13
 — — *aureus*, Wachstum auf Fleischagar.
 447
 — *saccatus* im Darne des Ochsen. 13
 — *sensibilis* n. sp., Geißelfärbung. 216
 — — —, Kulturelles. 219
 — — —, Morphologie. 216
 Mikrokokken im Magen des Ochsen. 11
 Mikrothan gegen Läuse. 263
 Milchsäurebakterien im Magen beim Kalbe.
 16
 Milzbrand s. a. *Bac. anthracis*.
 — -Immunserum, Wirkungsweise. 98
 Modifikation bei Bakterien. 296
 Mortifix gegen Läuse. 157
 Mortuntot gegen Läuse. 157
 Moschus gegen Läuse. 157. 263
 Mund, putride Infektion, durch *Bac. an-*
 aërob. haemolys. verursacht. 421
 Muskatnußpulver gegen Läuse. 157
 Mutation bei Bakterien. 235. 289. 416
 Nährboden, Blut-, Herstellung. 362
 — aus Blutkuchen. 111
 — aus Blutplasma. 107
 Nahrung und Bakterienflora des Darmes.
 9. 22
 Nambi-uvu, Hundekrankheit, patholog.
 Anatomie. 267
 —, —, Behandlung mit Trypanblau. 271
 —, —, durch *Rangelia vitalii* verursacht.
 269
 —, —, Symptomatologie. 265
 Naphthalin + Benzin gegen Läuse. 157
 — + Fenchelöl gegen Läuse. 157
 — gegen Läuse. 157. 263
 — + Terpentin gegen Läuse. 157
 — + Vaseline gegen Läuse. 158
 Naphthol gegen Läuse. 157
 Naphthor gegen Läuse. 157
 Nekroseherde der Leber, durch *Bac. para-*
 typhi verursacht. 303
 — — —, durch *Bac. typhi*-Gruppe ver-
 ursacht. 301
 Nelken-Deciäthrol gegen Läuse. 263
 Nelkenöl gegen Läuse. 157
 Netzmagen, Bakterien in demselben beim
 Kalbe. 16
 —, — — — beim Ochsen. 11
 Nik-O-Laus gegen Läuse. 157
 Nikolausöl gegen Läuse. 157
 Ochsen, Bakterienflora des Darmes. 6
 —, — des Magens. 11
 Oedem, malignes. 249. 367. 420
 Oele s. a. Oleum.
 —, ätherische, gegen Läuse. 155
 Ohr, blutendes s. Nambi-uvu.
 Oleum aurantior. flor. turc. gegen Läuse.
 263
 — *betulae* gegen Läuse. 156. 157
 — *carvi* gegen Läuse. 263
 — *caryophylli* gegen Läuse. 263
 — *citri* gegen Läuse. 263
 — *lupoli* gegen Läuse. 263
 — *origani* gegen Läuse. 263
 — *patschouly* gegen Läuse. 263
 — *pini* gegen Läuse. 263
 — *rutae gallic.* gegen Läuse. 263
 — *sabinae* gegen Läuse. 263
 — *thymi* gegen Läuse. 263
 — *valeriani* gegen Läuse. 263
 Optochin zur Differenzierung von Pneumo-
 kokken und Streptokokken. 198
 —, Wirkung auf Gonokokken. 202
 —, Wirkung auf Meningokokken. 202
 —, Wirkung auf *Micrococcus catarrh.* 202
 Orthodichlorbenzol gegen Läuse. 157
 Pausen, Bakterien in demselben beim Kalbe.
 15
 —, — — — beim Ochsen. 11
 Paradichlorbenzol gegen Läuse. 157
 Paraffin + Anisol-Imprägnierung. 157
 Paragglutination. 272
 Parasiten-Creme gegen Läuse. 157
 — -Liniment gegen Läuse. 157
 — -Salbe gegen Kriegeläuse. 157
 Parasitin gegen Läuse. 157
 Parasitol gegen Läuse. 157
 Paratyphus s. a. *Bacillus paratyphi*.
 —, Lebernekroseherde. 301
 —, Vaccination gegen denselben. 63
 Pediculus vestimenti s. a. Kleiderläuse,
 Läuse.

- Pedikulin gegen Läuse. 157
 Pedol gegen Läuse. 157
 Penicillium glaucum im Magen beim Kalbe. 17
 Peptonagar, Hefenwasser-, Ersatz für Fleischwasserpeptonagar. 363
 Pereat gegen Läuse. 157
 Perubalsam gegen Läuse. 157. 263
 Perugen gegen Läuse. 157
 Pest s. a. Bacillus pestis.
 —, Serumdiagnose. 102
 —, Vaccination gegen dieselbe. 64
 Peste de sangue s. Nambi-uvu.
 Petroleum gegen Läuse. 157
 — + Anisol gegen Läuse. 156
 — + Leinöl gegen Läuse. 157
 Pfeffer, schwarzer, gegen Läuse. 156. 157
 Pfefferminz-Deciäthrol gegen Läuse. 263
 — -Oel gegen Läuse. 263
 Pfeifferol gegen Läuse. 157
 Pferdefleischagar zur Bakteriendiagnostik. 446
 Pflanzen-Geschwülste, Aetiologie. 261
 Phagocytose und Antipneumococcus-Serum. 89
 Phenol, Wirkung auf Bac. prodigiosus. 172
 —, Wirkung auf Staphyl. pyog. aureus. 179
 Piroplasma vitalii s. Rangelia vitalii.
 Plagin gegen Läuse. 157
 Plasma-Nährstoff für Massenkulturen. 107
 Pneumococcus, Anti-, -Serum und Phagocytose. 89
 —, —, —, Wirkungsweise. 77. 85. 89
 —, Differenzierung von Streptokokken durch Optochin. 198
 — -Immunität und Leukocyten. 74. 84
 — -Infektion, Immunisierung. 74. 84. 89
 Pneumocystis carinii n. sp. in der Lunge, Beschreibung. 46
 Pneumonie-Serum, Immunkörper in demselben. 87
 Präfa gegen Läuse. 157
 Präzipitinogen zur Rotlaufdiagnose. 469
 Propper gegen Läuse. 157
 Proteus-Arten im Darne. 8
 — im Darne des Ochaen. 12
 —, Wirkung von Salzsäure. 173. 359
 Pseudomonas xantho n. sp., Kulturelles. 222
 — — —, Morphologie. 220
 Pseudotuberkel der Leber. 301
 Putride Mundinfektion, durch Bac. anaërob. haemolys. verursacht. 421
 Pyämie, durch fusiforme Bakterien verursacht. 130
 Quecksilber s. a. Hydrargyrum.
 — -Präparate gegen Läuse. 156. 157
 Queissers Anisol-Läuse-Hilfe 157
 Radikal gegen Läuse. 157
 Rangelia vitalii, Erreger des Nambi-uvu. 269
 — —, Morphologie, Biologie. 269
 Rapsöl + Xylol gegen Läuse. 158
 Ratin zur Zieselvertilgung. 165
 Rattenschädling s. Bacillus der Gärtner-Gruppe.
 Rectum s. Mastdarm.
 Rhynchocystis geoplanæ n. sp., Anatomie, Biologie. 482
 Riechstoffe gegen Läuse. 155
 Riedels Läuse-Tod-Tinktur 157
 Riesenzellengranulom und Kieselgurerde. 261
 Rinder s. a. Kälber, Ochaen.
 —, Bakterienflora des Darmkanales. 6
 Rindfleischagar zur Bakteriendiagnostik. 446
 Rosmarinöl gegen Läuse. 157. 263
 Rotlauf-Bacillus in Schweineorganen. 469
 —, Diagnose mit Präzipitinogen. 469
 Rotz s. Bacillus mallei.
 Rückfallfieber, Epidemie. 425
 —, mit Malaria verbunden. 426
 —, mit Syphilis und Malaria verbunden. 426
 Ruhr, bakterielle s. a. Bac. dysenteriae.
 —, —, Diagnose mittels Drigalski-Conradi-Agars. 283
 — —, Diagnose mittels Säurefuchsinagars Kindborg. 442
 — —, Diagnose mittels Serums. 272
 — —, Vaccination gegen dieselbe. 72
 Russapulver gegen Läuse. 157
 Russensalbe gegen Läuse. 157
 Sabadilleessig gegen Läuse. 157
 — + Naphthalin gegen Läuse. 157
 Säure, schweflige, gegen Läuse. 157. 333
 Säureagglutination des Bac. pestis. 102
 — des Bac. pseudotubercul. rodentium. 106
 Säurefuchsinagar Kindborg zur Typhus- und Ruhrdiagnose. 442
 Salbe, graue, gegen Läuse. 157
 Salfarkose gegen Läuse. 157
 Salmiakgeist gegen Läuse. 157
 Salpalcol gegen Läuse. 157
 Salzsäure, Wirkung auf Bac. coli. 172. 359
 —, Wirkung auf Bac. enteritidis Gärtner. 173. 359
 —, Wirkung auf Bac. paratyphi. 173. 359
 —, Wirkung auf Bac. prodigiosus. 174. 359
 —, Wirkung auf Bac. typhi. 175. 359
 —, Wirkung auf Bakterien. 172. 359
 —, Wirkung auf Proteus. 173. 359
 —, Wirkung auf Staphyloc. pyog. aureus. 172
 —, Wirkung auf Streptokokken. 173. 359
 Sarcina lutea, Wachstum auf Fleischagar. 447
 — rosea, Wirkung von Schwefelkohlenstoff. 328
 Sarcinen, Wasserstoffsuperoxydspaltung. 440
 Sarkom, Aetiologie. 256. 259
 — und Cysticercus fasciolaris. 258
 —, Hühner-, Aetiologie. 256. 259
 Schmalzeinreibung gegen Läuse. 157
 Schutzimpfung s. a. Immunisierung, Vaccination.
 Schwefeläther gegen Läuse. 157
 Schwefelblume gegen Läuse. 157
 Schwefelkohlenstoff gegen Läuse. 157. 328
 —, Wirkung auf Mikroorganismen. 328
 — zur Zieselvertilgung. 167

- Schwefelpräparate gegen Läuse. 156
 Schwefelpräzipitat gegen Läuse. 157
 Schwefelkiesenschäum gegen Läuse. 157
 Schweflige Säure gegen Läuse. 157. 333
 Schweine, *Bacillus murisepticus* in den Organen. 469
 — -Läuse, Wirkung von Heißluft, trockener stark bewegter. 53
 —, Rotlauf, Diagnose mit Präzipitinogen. 469
 —, Rotlaufbacillus in den Organen. 469
 Selen, Hemmung von *Bac. coli*-Wachstum. 489
 — zur Typhusbacillen-anreicherung. 487
 Senföl gegen Läuse. 157
 Serbol gegen Läuse. 157
 Serum, Agglutination von Paratyphus- und Typhusbacillen bei Chinesen. 435
 —, Antipneumococcus-, und Phagocytose. 89
 —, —, Wirkungsweise. 77. 85. 89
 — -Kongorot zur Differenzierung von *Bac. typhi* und *Bac. coli*. 204
 —, Milzbrandimmun-, Wirkungsweise. 98
 —, Pneumonie-, Immunkörper in demselben. 87
 Serumbehandlung von *Pneumococcus*-Infektionen. 77. 85. 89
 Serumdiagnose der Pest. 102
 — des Rotlaufes. 469
 — des Ruhr. 272
 — der Syphilis mittels Wassermannscher Reaktion, Modifikation. 279
 — des Typhus exanthematicus. 186
 Smerton gegen Läuse. 157
Spirillum volutans, Morphologie. 211
 Sporen des *Bacillus tuberculosis*. 114
Staphylococcus pyogenes albus, Wirkung von Salzsäure. 359
 — - *aureus* im Magen beim Kalbe. 15
 — — —, Wirkung von Alkohol. 182
 — — —, Wirkung von Chloralhydrat. 181
 — — —, Wirkung von Formaldehyd. 178
 — — —, Wirkung von Jod-Jodkalium. 178
 — — —, Wirkung von Magensaft. 356
 — — —, Wirkung von Phenol. 179
 — — —, Wirkung von Salzsäure. 172. 359
 — — —, Wirkung von Sublimat. 172
 — — —, Wirkung von Thymol. 180
 Staphylokokken im Darne beim Kalbe. 18
 — im Magen beim Kalbe. 15
 — — — beim Ochsen. 11
 —, Wasserstoffsperoxydspaltung. 440
 Sternanisöl gegen Läuse. 157
 Stoffe, Kleider- s. Kleiderstoffe.
Streptococcus acidilactici s. *Bacillus Güntheri*.
 — *albicans* im Magen des Ochsen. 11
 — *anaërobus* Asch, Kulturelles. 3. 4
 — — —, Morphologie. 3
 — *elasticus* n. sp., Beschreibung, im Darne beim Kalbe. 20
 — — — — — beim Ochsen. 12
 — *putridus*, Eiterung, Ursache derselben. 2
Streptococcus putridus, Hämolyse. 2
 — —, Kulturelles. 2. 4
 — —, Morphologie. 3
 — *viridans*, Differenzierung von Pneumokokken durch Optochin. 198
 Streptokokken, anaërobe. 1
 — im Darne beim Kalbe. 18
 —, Differenzierung von Pneumokokken durch Optochin. 198
 — im Magen des Kalbes. 15
 — — — des Ochsen. 11
 —, Wasserstoffsperoxydspaltung. 441
 —, Wirkung von Salzsäure. 173. 359
 Sualin gegen Läuse. 157
 Sublimat gegen Läuse. 157
 —, Wirkung auf *Staphylococcus pyogenes aureus*. 172
 Sublimatessig gegen Läuse. 157
 Sulfidal gegen Läuse. 157
 Syphilis, Diagnose mittels Wassermannscher Reaktion, Modifikation d. Technik. 279
 —, Immunkörper, thermolabiler. 279
 —, mit Rückfallfieber und Malaria verbunden. 426
 Tabaklauge gegen Läuse. 157
 Tabakwasser + arsenige Säure gegen Läuse. 156
 Terpentinöl + Gleitpuder gegen Läuse. 157
 — gegen Läuse. 157. 263
 Tetrachlorkohlenstoff gegen Läuse. 157
 Texan gegen Läuse. 157
 Thymol, Wirkung auf *Staphylococcus pyogenes aureus*. 180
 Tibinflüssigkeit gegen Läuse. 157
 Tibinpuder gegen Läuse. 157
 Tibinsalbenstift gegen Läuse. 157
Triatoma infestans, Trypanosomen desselben. 42
 Trichloräthylen gegen Läuse. 157
 Trikresol + Anisol s. Blattar-Kresolpuder. 157
 — gegen Läuse. 157
 Trypanblau gegen Nambi-uvu. 271
 Trypanosomen des *Triatoma infestans*. 42
 Trypanosomiasis s. a. Chagaskrankheit.
 —, Uebertragung durch *Triatoma infestans*. 42
 Tuberkel, Pseudo- s. Pseudotuberkel.
 Tuberkulose s. a. *Bacillus tuberculosis*.
 — beim Meerschweinchen, Mindestzahl von Tuberkelbacillen, die noch Tuberkulose hervorruft. 308
 Tubex gegen Läuse. 157
 Tumoren s. Geschwülste.
 Typhus abdominalis s. a. *Bacillus typhi*.
 — —, Behandlung mit Indol. 101
 — —, Diagnose mittels Säurefuchsinagars Kindborg. 442
 — —, Differentialdiagnose von Typhus exanthem. 196
 — —, Lebernekroseherde. 301
 — —, Vaccination gegen denselben. 63
 — *exanthematicus*, Differentialdiagnose von Typhus abdominalis. 196
 — —, Komplementbindung. 186

Typhus exanthematicus, Serumdiagnose.	186	Vibrio cholerae Wasserstoffsuperoxyd-spaltung.	441
Uba s. Kresolpuder.		— —, Wirkung von Indol.	100
Ungeziefermittel gegen Läuse.	157	— — annulatus, Beschreibung.	239
Ungezieferpomade gegen Läuse.	157	— — circumvallatus, Beschreibung.	239
Ungeziefersalbe gegen Läuse.	157	— — grandis, Beschreibung.	238
Ungezieferstift „Guter Kamerad“ gegen Läuse.	157	— fluorescens im Darne beim Kalbe.	21
Ungeziefertod gegen Läuse.	158	— Metschnikovii, Wachstum auf Fleisch-agar.	447
Vaccin, kombiniertes.	63	— Miecznikowii, Wasserstoffsuperoxyd-spaltung.	441
— —, gegen Cholera und Pest.	64	Vibrien, Wasserstoffsuperoxyd-spaltung.	441
— —, gegen Ruhr, Typhus und Paratyphus.	72	Vinchuca s. a. Triatoma infestans.	
— —, gegen Typhus und Maltafieber.	68	—, Trypanosomen derselben.	40
— —, gegen Typhus und Paratyphus.	63	Vogeltuberkelbacillus s. Bac. tuberculosis gallinaceus.	
— —, gegen Typhus, Paratyphus, Bac. columbensis und Bac. asiaticus.	70	Waldduft-Aethrol gegen Läuse.	263
— —, gegen Typhus, Paratyphus und Maltafieber.	68	Wanzen s. a. Vinchuca.	
— —, gegen Typhus, Paratyphus, Maltafieber, Bac. columbensis und Bac. asiaticus.	70	Wasserbakterien, Wasserstoffsuperoxyd-spaltung.	441
— —, gegen Typhus, Paratyphus, Pest und Cholera.	64	Wasserdampf zur Desinfektion.	51
Vaccination s. a. Immunisierung.		—, heißer, gegen Läuse.	322
— gegen Cholera, Wert.	339	Wassermannsche Reaktion, Modifikation.	279
—, kombinierte, gegen mehrere Infektionskrankheiten.	63	— — bei Typhus exanthem.	187
Variation bei Bac. diphtheriae.	374	Wasserstoffsuperoxyd zur Bakteriendifferenzierung.	440
— bei Bakterien.	369	Wittesin gegen Läuse.	158
Vaselin + Naphthalin gegen Läuse.	158	Xanthome, Aetiologie.	256
Verdauung und Bakterien.	7	Xanthosarkome, Aetiologie.	256
Vererbung bei Bakterien.	290	Xylol gegen Läuse.	158, 263
Verwundete, Leberabszesse, endemische.	453	— + Rapsöl gegen Läuse.	158
Vibrio cholerae s. a. Cholera asiatica.		Yoko-Yoko gegen Läuse.	158
— —, Mutation.	238	Zibi gegen Läuse.	158
— —, Veränderlichkeit.	234	Ziesel, Vertilgung mit Ratin.	165
		—, Vertilgung mit Schwefelkohlenstoff.	167
		Zimtöl gegen Läuse.	158, 263

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Abszeß, Leber-, endemischer, bei Verwundeten.	455, 457	Bacillus paratyphi, Lebernekroseherde durch denselben. (Taf. I, II.)	308
Acanthocotyle bothi n. sp., Anatomie.	486	— typhi, Nachweis mit Säurefuchsinagar.	445
Apparat, Desinfektions-, für trockene stark bewegte Heißluft.	52, 53	Bacterium punctans flavum n. sp., Morphologie, Kultur. (Taf. II, Fig. 67—74.)	234
Bacillus, anaërober, Ursache eines endemischen Leberabszesses bei Verwundeten, Morphologie, Kultur.	456, 459	— — sulfureum n. sp., Morphologie, Kultur. (Taf. I, II, Fig. 48—67.)	233
— anaërobis haemolysans n. sp., pathologische Veränderungen bei Kaninchen durch denselben.	423	— racemosum n. sp., Morphologie. (Taf. I, Fig. 1—7.)	232
— diphtheriae-Gruppe, Verwandlungsfähigkeit. (Taf. I—III.)	417	Bakterien, Verwandlungsfähigkeit. (Taf. I—III.)	417
— dysenteriae, Nachweis mit Säurefuchsinagar.	445	Blutkörperchen, rotes, Spirochaete Obermeieri an demselben.	431
— fusiformis, Erreger pyämischer Eiterungen, Morphologie, Kultur. (Taf.)	142	Brutschrank, flammenloser versendbarer.	365
		Coccidiose der Kaninchenleber.	257—259

- Darm-Trypanosomen der Vinchucas. (Taf. I, II.) 46
- Desinfektion mit trockener stark bewegter Heißluft, Apparat usw. 52. 53. 55. 56. 58. 60
- Granulom, Riesenzellen-, durch Kieselgur verursacht. 261
- Heißluft, trockene stark bewegte, zur Desinfektion, Apparat usw. 52. 53. 55. 56. 58. 60
- Hühner-Sarkom. 260
- Kaninchen, mit *Bac. anaërobis haemolys.* infiziert. 423
- Leber, Coccidiose. 257—259
- —, Nekroseherde, durch *Bac. paratyphi* verursacht. (Taf. I, II.) 308
- Kleiderstoffe und Läuse. 325
- Kollodiumsäckchen, Herstellung. 393
- Läuse s. a. *Pediculus*.
- und Kleiderstoffe. 325
- Leber-Abszeß, endemischer, bei Verwundeten. 455. 457
- , Coccidiose bei Kaninchen. 257—259
- , miliare Lymphome, durch *Bac. paratyphi* verursacht. (Taf. I, II.) 308
- , Nekroseherde, durch *Bac. paratyphi* verursacht. (Taf. I, II.) 308
- , — bei Typhus. (Taf. II, Fig. 3.) 308
- Lungen-Herde bei Verwundeten. 455
- Micrococcus sensibilis* n. sp., Morphologie, Kultur. (Taf. I, Fig. 8—28.) 233
- Nekrose, knötchenförmige, der Leber, bei Paratyphus und Typhus. (Taf. I, II.) 308
- Pediculus* s. a. Läuse.
- *vestimenti*, mikrosk. Anatomie. (Taf.) 339
- Piroplasma vitalii* s. *Rangelia vitalii*.
- Pneumocystis carinii* n. sp., Entwicklung (Taf.) 50
- Pseudomonas xanthe* n. sp., Morphologie. (Taf. I, Fig. 29—47.) 233
- Pseudotuberkel in der Leber bei Paratyphus und Typhus. (Taf. I, II.) 308
- Rangelia vitalii*, Morphologie, Entwicklung. (Taf. I, II.) 271
- Rhynchocystis geoplanæ* n. sp., Morphologie, Entwicklung. 483. 484
- Riesenzellen-Granulom, durch Kieselgur verursacht. 261
- Ruhr, bakterielle, Diagnose mit Säurefuchsinagar Kindborg. 445
- Säurefuchsinagar zur Ruhrdiagnose. 445
- zur Typhusdiagnose. 445
- Sarkom, Hühner-. 260
- Spirochaete Obermeieri* an Erythrocyten. 431
- —, Morphologie usw. 428. 431. 433. 434
- Spirosoma Obermeieri* s. *Spirochaete Obermeieri*.
- Stoffe, Kleider-, und Läuse. 325
- Streptococcus elasticus*, Morphologie. 12
- Triatoma infestans*, Trypanosomen derselben. (Taf. I, II.) 46
- Trypanosomen der Vinchucas. (Taf. I, II.) 46
- Typhus abdominalis, Diagnose mit Säurefuchsinagar Kindborg. 445
- —, Lebernekroseherde. (Taf. II, Fig. 3.) 308
- Variation der *Bac. diphtheriae*-Gruppe. (Taf. I—III.) 417
- Verwundete, endemischer Leberabszeß. 455. 457
- , Lungenherde. 455
- Vinchucas, Trypanosomen derselb. (Taf. I, II.) 46

Fro. m m a n n s c h e B u c h d r u c k e r e i (H e r m a n n P o h l e) i n J e n a. — 4536

33
14

158011

51.



